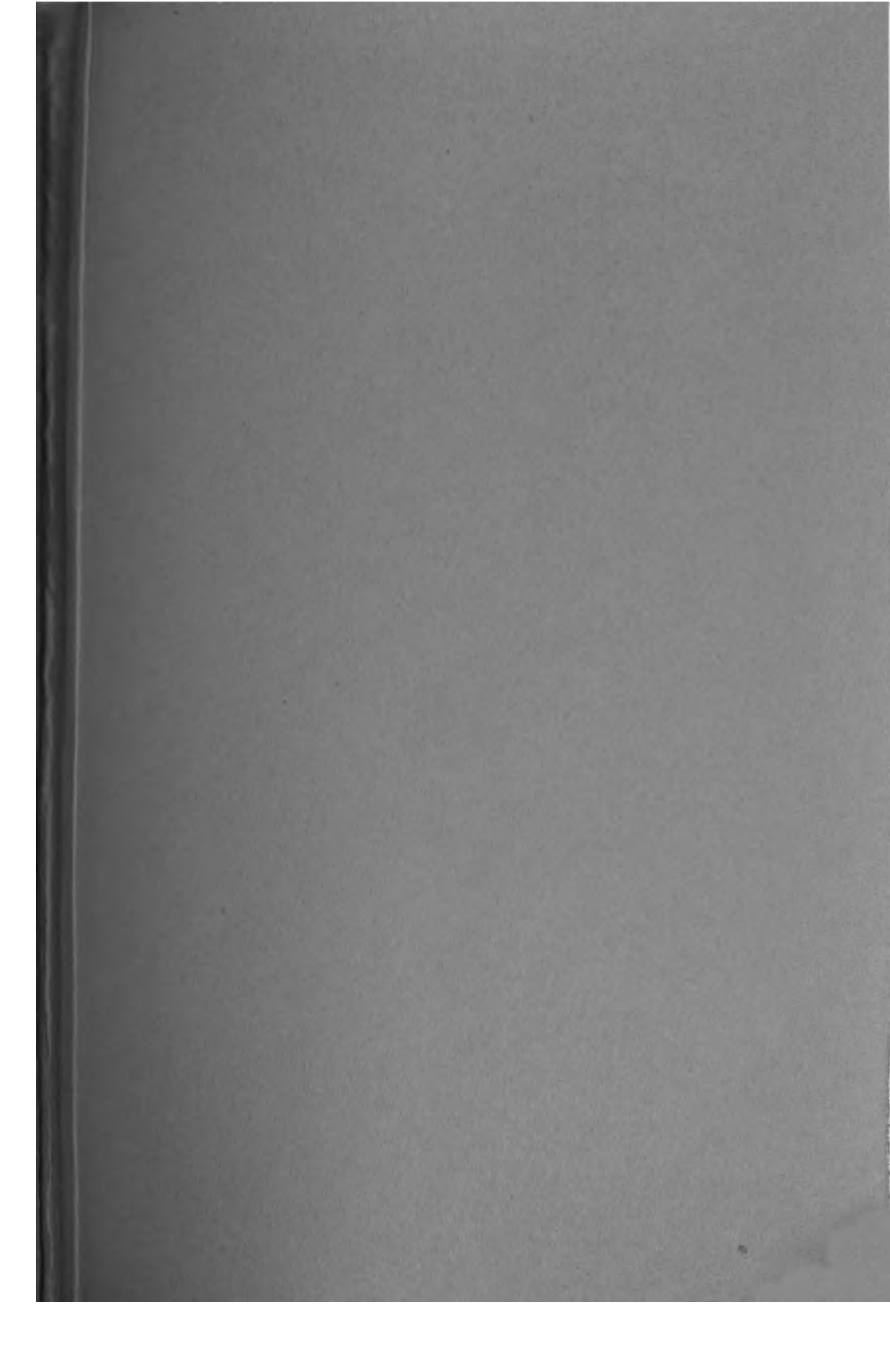
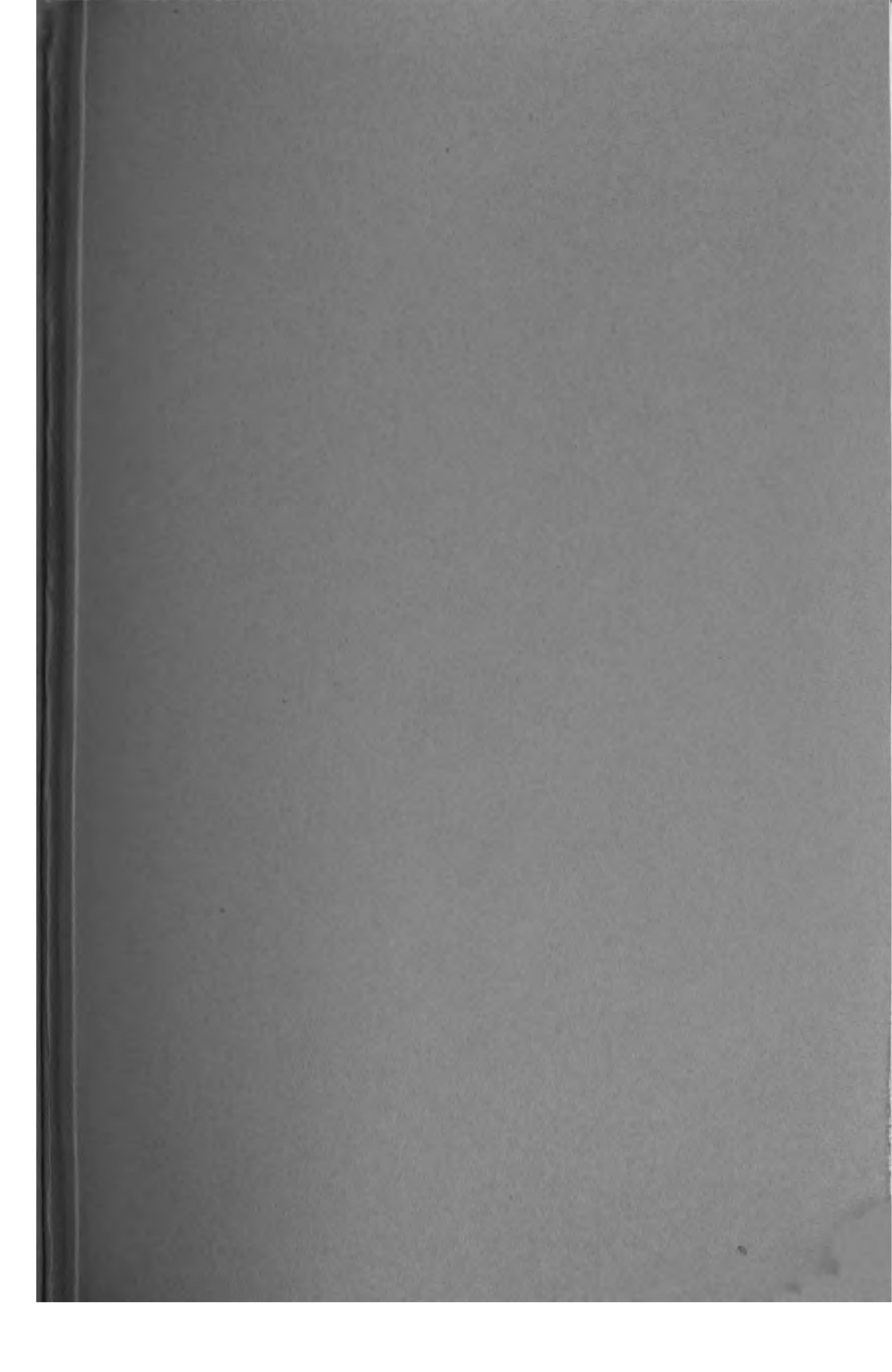
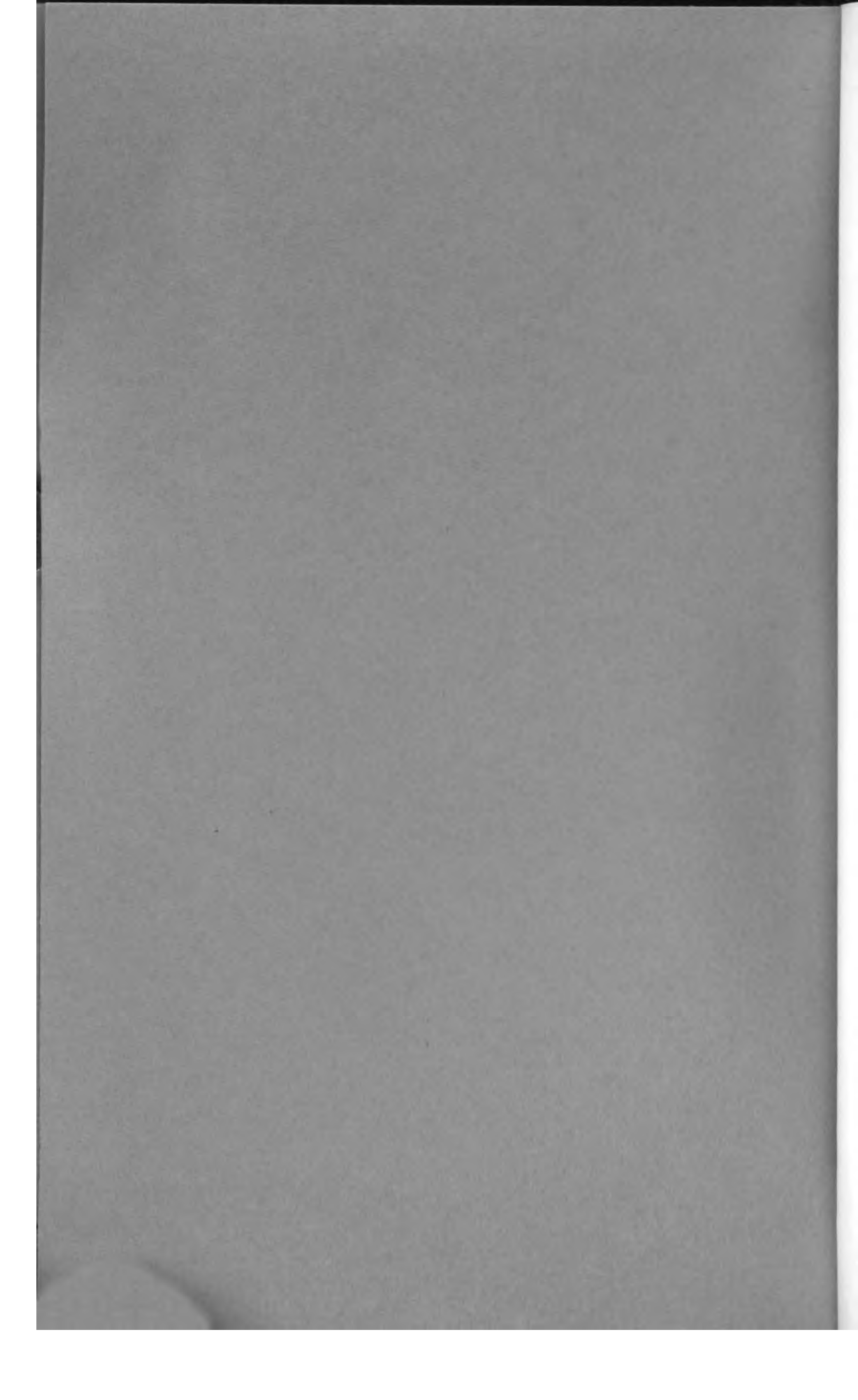
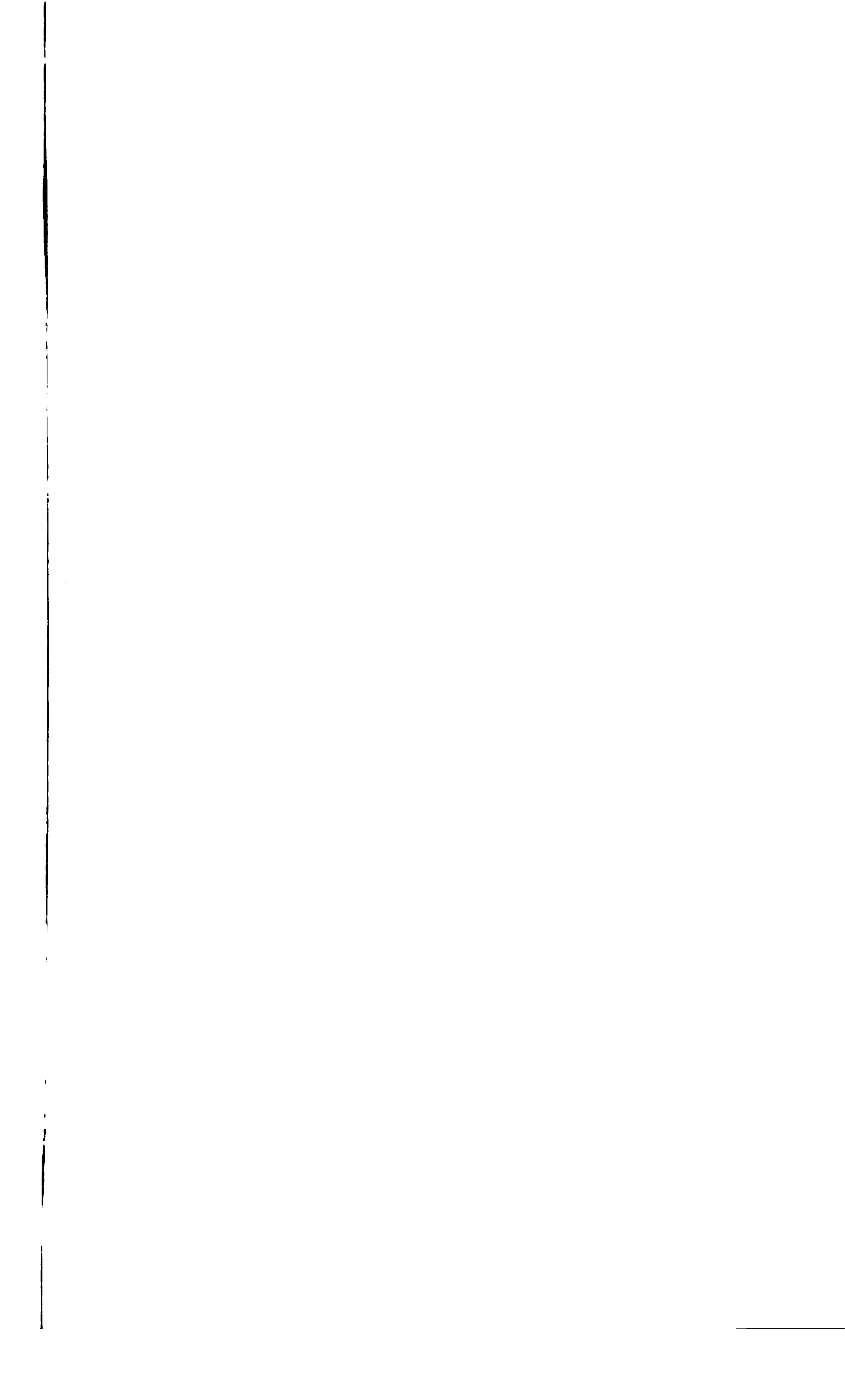
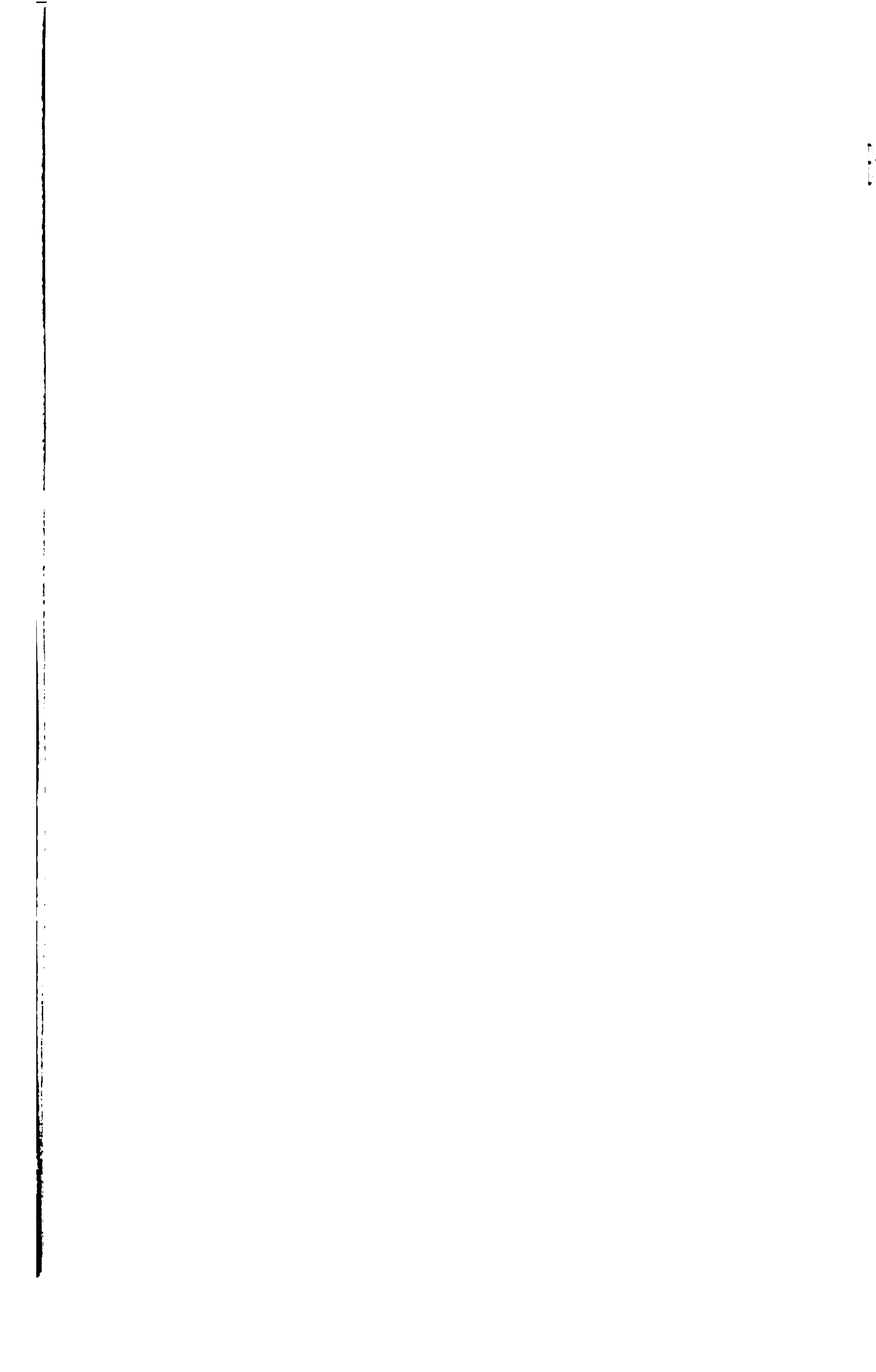

B 3 778 099











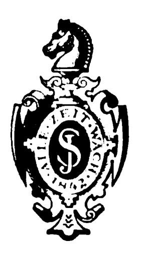
Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

herausgegeben von

C. Neuberg-Berlin

Hundertfünfundsechzigster Band



Berlin
Verlag von Julius Springer
1925

Druck von Friedr. Vieweg & Sohn Akt.-Ges., Braunschweig.

Inhalt.

Biochemie des Phosphorsäurestoffwechsels der höheren Pflanzen.

I. Mitteilung:

Über die enzymatische Überführung der anorganischen Phosphorsäure in organische Form[1].

Von

J. Bodnár.

(Aus dem kgl. ungarischen pflanzenbiochemischen Institut Budapest, aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität Debrecen und aus dem chemischen Institut der Universität Szeged.)

(Eingegangen am 26. August 1925.)

Theoretischer Teil.

Die große Bedeutung des Phosphors im Stoffwechsel der Pflanzen und überhaupt in den lebenden Organismen ist allgemein bekannt; über die nähere Art seiner Teilnahme im Stoffwechsel — gerade in den höheren Pflanzen — verfügen wir aber keineswegs mit jenen tieferen Kenntnissen, welche die große praktische Bedeutung der Frage erfordern. Es ist so viel bekannt, daß die durch die Wurzel der Pflanzen als Phosphate aufgenommene Phosphorsäure in verschiedene organische Phosphorverbindungen (Nucleoproteide, Nucleoalbumine, Phosphatide, Phytin) überführt wird, von denen während der Entwicklung der Pflanzen Phosphorsäure abgespalten werden kann[2].

So sind z. B. die Samen reich an organischen Phosphorverbindungen und enthalten kaum oder gar keine anorganische Phosphorsäure[3], dagegen kann man in keimenden Samen sehr viel Phosphorsäure nach-

---

[1]) Die in dieser Mitteilung beschriebenen Untersuchungen wurden noch im Jahre 1920 durchgeführt.

[2]) *L. Iwanoff*, Jahrb. f. wissensch. Bot. **36**, 355, 1901.

[3]) *E. Schulze* und *N. Castaro*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **41**, 475, 1904; *W. Windisch* und *W. Vogelsang*, Chem. Centralbl. **77**, II, 1573, 1906; *W. Windisch*, ebendaselbst **78**, I, 1439, 1907; *A. Stutzer*, diese Zeitschr. **7**, 471, 1908; *W. Vorbrodt*, Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie, Série A, 1910, S. **414**; *L. Adler*, Chem. Centralbl. **83**, II, 1162, 1912; *A. Rippel*, diese Zeitschr. **103**, 163, 1920.

weisen[1]). Die Abspaltung der Phosphorsäure aus den organischen Phosphorverbindungen wird in den höheren Pflanzen durch gewisse Enzyme (Phosphatase) besorgt; in die Enzymologie des Phosphorsäurestoffwechsels gehört unter anderem auch diese Frage, ob der stimulierende Einfluß der Phosphate auf die Atmung der Pflanzen mit der enzymatischen Überführung der Phosphorsäure in organische Form im Zusammenhang stehe, so wie das bei der Hefe bekannt ist.

In dieser Mitteilung wird die auf die Enzymologie des Phosphorsäurestoffwechsels der höheren Pflanzen sich beziehende ganze Literatur bekannt gemacht, um in den späteren Mitteilungen nur einfach auf dieselbe hinzuweisen.

Erstens hat *Iwanoff*[1]) das Vorhandensein eines Enzyms in Keimpflanzen von *Vicia sativa* konstatiert, welches aus den Nucleoalbuminen und aus den löslichen organischen Phosphorverbindungen Phosphorsäure abspaltet. *Zaleski*[2]) unterwarf das aus den getrockneten Keimpflanzen der *Lupinus angustifolius* gewonnene Mehl einer Autolyse und fand, daß sich die Menge der phosphorenthaltenden Eiweißstoffe und der Phosphatide in der ungekochten Probe verringert, dagegen die anorganische Phosphorsäure vermehrt habe.

Es wurden von *Zaleski*[3]) in *Vicia Faba* und *Weizenkeimen*, von *Theoderesco*[4]) in den jungen Blättern der *Pteris aquilina*, von *Tschernorutzky*[5]) im *Emulsin* das Vorhandensein eines aus Nucleinsäure Phosphorsäure frei machenden Enzyms nachgewiesen. *Plimmer*[6]) untersuchte die Wirkung der Kleie auf aus Weizen, Fleisch und Thymus hergestellten Nucleinsäuren und fand nur aus der vom Thymus stammenden Nucleinsäure eine Phosphorsäureabspaltung. *Suzuki*, *Yoshimura* und *Takaishi*[7]) fanden, daß in den wässerigen Extrakten verschiedener Samen (Weizen, Reis, Raps) die Menge der anorganischen Phosphorsäure während des Stehens sich vermehrte, was sie auf die Wirkung eines aus den organischen Phosphorverbindungen des Extraktes — in erster Linie aus Phytin — Phosphorsäure abspaltenden Enzyms zurückführten; es gelang ihnen, aus Reis das Phytin spaltende Enzym, welches sie Phytase nannten, zu isolieren. Nach den Untersuchungen von *Windisch* und *Vogelsang*[8]) spaltet sich aus den in Gerste und Malz befindlichen organischen Phosphorverbindungen auf enzymatische Wirkung Phosphorsäure ab. *Windisch*[9]) und *Reiser*[10]) haben festgestellt, daß die

---

[1]) *L. Iwanoff*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **20**, 366, 1902; *W. Zaleski*, ebendaselbst **20**, 426, 1902.

[2]) *W. Zaleski*, ebendaselbst **24**, 285, 1906; **29**, 146, 1911.

[3]) l. c.

[4]) *E. C. Theoderesco*, C. r. **155**, 554, 1912.

[5]) *H. Tschernorutzky*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **80**, 298, 1912.

[6]) *R. H. A. Plimmer*, Chem. Centralbl. **84**, II, 1130, 1913.

[7]) *U. Suzuki*, *K. Yoshimura* und *M. Takaishi*, Biochem. Centralbl., zitiert nach *W. Worbrodt*, l. c.

[8]) *W. Windisch* und *W. Vogelsang*, l. c.

[9]) *W. Windisch*, Chem. Centralbl. **79**, I, 865, 1908.

[10]) *W. Windisch* und *H. Reiser*, Wochenschr. f. Brauerei **29**, 288, 299, 313, 1912.

bei der Keimung der Gerste entstehende Phytase aus Phytin Phosphorsäure abspaltet. Nach *Worbrodt*[1]) wird aus den in verdünnter Essigsäure löslichen, sowie auch unlöslichen organischen Phosphorverbindungen der Gerste und des Maises durch die Wirkung der in den Samen vorhandenen Enzyme Phosphorsäure abgespalten. Diese Enzyme sind in der Gerste fertig zu finden, im Mais entstehen sie dagegen nur während der Keimung in größerer Menge. *Adler*[2]) untersuchte die Verteilung der Phosphorsäure in Gerste, Malz und Malzkeimen. Er stellte fest, daß nicht nur das Malz und die Malzkeime, sondern auch die ruhenden Gerstensamen ein wenig anorganischen Phosphor enthalten, und daß die Menge desselben beim Auslaugen mit Wasser wegen der Phosphorsäureabspaltung aus den organischen Phosphorverbindungen durch Enzyme erhöht wird. Wenn man aus der Gerste nur die ursprünglich anwesende anorganische Phosphorsäure herauslösen will, so muß man die Phosphorsäure abspaltenden Enzyme (Phosphatasen) vorher durch Kochen mit Alkohol inaktivieren. *Adler*[3]) unterschied im Malz zwei Phosphatasen voneinander; die eine bringt aus den unlöslichen Phosphorverbindungen den organischen Phosphatkomplex in die Lösung, aus welchem dann das andere Enzym Phosphorsäure abspaltet. Weiter zeigt er, daß aus dem zum Malzextrakt hinzugefügten Phytin Phosphorsäure abgespalten wird, und es gelang ihm, durch die aus grünem Malzextrakt in festem Zustande gewonnene Phytase 72 Proz. des Phytins zu spalten.

Es ist bekannt, daß der Lecithingehalt der im Dunkeln keimenden Samen während der Keimung abnimmt[4]). Nach den Untersuchungen von *Stoklasa*[5]) können die Pflanzen ihren Phosphorsäurebedarf aus dem zur sterilen Nährsalzlösung hinzugefügten Lecithin decken. Dagegen assimilieren die Pflanzen die Lecithinphosphorsäure nach den Untersuchungen von *Schulow*[6]) aus einer von Bakterien vollständig freien Nährsalzlösung nicht. *Zlataroff*[7]) fand, daß eine Lecithinemulsion die Keimung der Samen von *Cicer arietinum* stimuliert. Auf Grund dieser Erfahrungen ist wahrscheinlich, daß die höheren Pflanzen ein vom Lecithin Phosphorsäure abspaltendes Enzym enthalten. Die Anwesenheit eines aus der Glycerinphosphorsäure Phosphorsäure abspaltenden Enzyms (Glycerophosphatase) in Ricinussamen hat *Plimmer*[8]) nachgewiesen. Nach *Falk* und *Sugiura*[9]) ist die in den Ricinussamen vorhandene Esterase gleich der Glycerophosphatase. Aus den Untersuchungen von *Němec*[10]) ist es ersichtlich, daß die Glycerophosphatase in den Pflanzen sehr verbreitet ist; die Ölsamen spalten die Glycerinphosphorsäure am stärksten, die Eiweißsamen weniger, die Stärkesamen nur in Spuren. Nachdem nur 50 Proz. der Glycerinphosphorsäure gespalten werden [vor den Unter-

[1]) *W. Worbrodt*, l. c.
[2]) *L. Adler*, Chem. Centralbl. **83**, II, 1162, 1912.
[3]) *Derselbe*, diese Zeitschr. **70**, 1, 1915; **75**, 319, 1916.
[4]) *F. Czapek*, Biochemie der Pflanzen I, 777, 1913.
[5]) *J. Stoklasa*, Sitzungsber. d. Wien. Akad. **104**, 712, 1895; Biochemischer Kreislauf des Phosphations im Boden, 1911, S. 41.
[6]) *Iw. Schulow*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **31**, 97, 1913.
[7]) *As. Zlataroff*, diese Zeitschr. **75**, 200, 1916.
[8]) *R. H. A. Plimmer*, l. c.
[9]) *K. G. Falk* und *K. Sugiura*, Chem. Centralbl. **86**, I, 1271, 1915.
[10]) *A. Němec*, diese Zeitschr. **93**, 94, 1919.

suchungen von *Němec* hatten *Neuberg* und *Karczag*[1]) bei der Hefe Ähnliches gefunden], hält es *Němec* für wahrscheinlich, daß die Glycerophosphatase der Samen nur aus der d-Glycerinphosphorsäure (diese ist im Lecithin vorhanden) Phosphorsäure abspaltet. Nach den neueren Untersuchungen von *Němec*[2]) hängt die Fähigkeit der Samen, Glycerinphosphorsäure zu zersetzen, von der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung bzw. der Samen ab.

In den höheren Pflanzen sind nicht nur solche Phosphatasen zu finden, welche die in denselben vorhandenen Phosphorverbindungen zersetzen, sondern auch solche, welche aus den bisher in den Pflanzen nicht nachgewiesenen organischen Phosphorverbindungen Phosphorsäure abspalten.

Nach *Plimmer*[3]) ist ein den Phosphorsäureäthylester hydrolysierendes Enzym im Ricinussamen und in der Kleie vorhanden. *Harding*[4]) hat in der Ricinuslipase und im Emulsin, *Plimmer*[5]) in Ricinussamen und in der Kleie, *Euler* und *B. Euler*[6]) in den Platanblättern und in keimender Gerste die Gegenwart eines aus dem Hexosephosphorsäureester Phosphorsäure abspaltenden Enzyms (Hexosephosphatase) nachgewiesen. Nach den Untersuchungen von *Němec* und *Duchou*[7]) ist die Saccharosephosphatase, welche aus dem von *Neuberg* und *Pollak*[8]) dargestellten Rohrzuckerphosphorsäureester Phosphorsäure abspaltet, in den Pflanzen sehr verbreitet; aus den Daten ihrer Untersuchungen kann festgestellt werden, daß die Saccharosephosphatase keineswegs mit der Glycerophosphatase identisch ist.

Aus der angeführten Literatur ist ersichtlich, daß über die aus organischen Phosphorverbindungen Phosphorsäure abspaltenden Enzyme (Phosphatasen) der höheren Pflanzen mehrere Forscher viele Daten berichtet haben. Es ist hingegen in den höheren Pflanzen ein solches Enzym — außer einem nicht näher untersuchten Falle [die Untersuchungen von *Euler* und *Kullberg*[9]) mit Hafer] — nicht bekannt, welches die Überführung der Phosphorsäure in organische Form katalysiert. Abgesehen von einer in dieser Richtung ebenfalls von *Euler* und *Kullberg* ausgeführten Untersuchung mit dem Mycelium des *Aspergillus niger*, wissen wir bisher nur von der Hefe, daß sie ein Enzym enthält, welches fähig ist, die Phosphorsäure in organische Form zu überführen[10]).

---

[1]) *C. Neuberg* und *L. Karczag*, diese Zeitschr. **36**, 60, 1911.
[2]) *A. Němec*, ebendaselbst **138**, 198, 1923.
[3]) *R. H. A. Plimmer*, l. c.
[4]) *V. J. Harding*, Proc. Roy. Soc. **85**, 418, 1912.
[5]) *R. H. A. Plimmer*, l. c.
[6]) *H. Euler* und *B. Euler*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **92**, 292, 1914.
[7]) *A. Němec* und *F. Duchou*, diese Zeitschr. **119**, 73, 1921.
[8]) *C. Neuberg* und *H. Pollak*, ebendaselbst **23**, 515, 1910; **26**, 514, 1910.
[9]) *H. Euler* und *S. Kullberg*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **74**, 15, 1911.
[10]) In letzterer Zeit konnte *A. J. Virtanen* (Zeitschr. f. physiol. Chem. **138**, 136, 1924) mit dem Trockenpräparat von *B. casei E.* eine Bindung des Phosphats an Zucker konstatieren.

Iwanoff[1]), *Harden* und *Young*[2]) haben gleichzeitig, aber voneinander unabhängig festgestellt, daß das zu einer mit Preßsaft oder Trockenhefe gärenden Zuckerlösung zugefügte Alkaliphosphat in eine mit Magnesiamixtur nicht ausfällbare organische Verbindung (Zuckerphosphorsäureester) übergeht.

Die Meinungen über die Zusammensetzung des in gärender Zuckerlösung entstandenen Phosphorsäureesters waren im Anfang verschieden. *Iwanoff*[3]) hielt ihn für Triosephosphorsäureester, *Lebedew*[4]) für Hexosemonophosphorsäureester und *Young*[5]) für Fructosediphosphorsäureester. *Euler* und *Fodor*[6]) gaben an, daß neben Hexosediphosphorsäureester auch Triosephosphorsäureester entsteht.

Neuberg und *Mitarbeiter*[7]) bestätigen die Resultate von *Young*, daß aus dem zur gärenden Zuckerlösung hinzugefügten Alkaliphosphat Fructosediphosphorsäureester entsteht.

Nach *Iwanoff*[8]) geschieht die Esterifizierung der Phosphorsäure nicht nur in gärender Zuckerlösung, sondern auch im Filtrat einer mit Hefanol in Gärung gebrachten Zuckerlösung, und zwar durch die Wirkung des im Filtrat vorhandenen, von *Iwanoff* Syntease genannten Enzyms. *Harden* und *Young*[9]) behaupten jedoch, daß die Entstehung der Zuckerphosphorsäure und die alkoholische Gärung gleichzeitig sich vollziehende Reaktionen sind, ohne alkoholische Gärung gibt es keine Esterifizierung der Phosphorsäure. *Euler* und *Mitarbeiter*[10]) berichten in mehreren Mitteilungen von den Untersuchungen über das phosphorsäureesterifizierende Enzym der Hefe. Sie fanden, daß das phosphorsäureesterifizierende Enzym von Zymase trennbar ist; wenn sie zu dem wässerigen und den Zucker nicht vergärenden (also Zymase nicht enthaltenden) Auszug der Trockenhefe „*H*" eine mit lebender Hefe nur teilweise vergorene Zuckerlösung und Alkaliphosphat (Na_2HPO_4) zufügten, so beobachteten sie, daß mit der Zeit der anorganische Phosphorsäuregehalt der Lösung sich verminderte und schließlich verschwand, und diese Reaktion vollzog sich ohne Entstehung von CO_2. Die nicht vollständig vergorene Zuckerlösung enthält also eine solche Substanz, welche die Phosphorsäure durch die Wirkung des im wässerigen Auszuge der Trockenhefe „*H*" vorhandenen und von *Euler*

---

[1]) *L. Iwanoff*, Travaux Soc. des Naturalistes. St. Petersburg 1905.

[2]) *A. Harden* und *W. J. Young*, Proc. Chem. Soc. **21**, 189, 1905; diese Zeitschr. **82**, 173, 1911.

[3]) *L. Iwanoff*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **50**, 281, 1906/07; Centralbl. f. Bakt. **24**, Abt. II, S. 1, 1909.

[4]) *A. Lebedew*, diese Zeitschr. **20**, 114, 1909; **28**, 213, 1910.

[5]) *W. J. Young*, Proc. Roy. Soc. B **81**, 528, 1909; diese Zeitschr. **32**, 188, 1911.

[6]) *H. Euler* und *A. Fodor*, diese Zeitschr. **36**, 401, 1911; **86**, 337, 1918.

[7]) *C. Neuberg, E. Färber, A. Levite* und *E. Schwenk*, diese Zeitschr. **83**, 244, 1917; **88**, 432, 1918.

[8]) *L. Iwanoff*, l. c.

[9]) *A. Harden* und *W. J. Young*, Centralbl. f. Bakt. **26**, 178, 1910.

[10]) *H. Euler* und *S. Kullberg*, l. c.; *H. Euler* und *Hj. Ohlsén*, diese Zeitschr. **37**, 313, 1911; Zeitschr. f. physiol. Chem. **76**, 468, 1911; *H. Euler*, diese Zeitschr. **41**, 215, 1912; *H. Euler* und *D. Johanson*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **80**, 175, 205, 1912; *H. Euler, Hj. Ohlsén* und *D. Johanson*, diese Zeitschr. **84**, 402, 1917.

„*Phosphatese*“ genannten Enzyms bindet. Gleich der teilweise vergorenen Zuckerlösung verhält sich die reine Fructose und die vorher mit Alkali behandelte Glucoselösung. Es ist interessant, daß von den untersuchten Trockenhefearten ein zymasefreier und Phosphatese enthaltender Extrakt nur von der genannten Hefe „*H*“ gewonnen werden konnte.

Mit der Frage. in welcher Weise sich die Esterifizierung der Phosphorsäure bei der alkoholischen Gärung vollzieht, will ich mich hier nicht befassen, ich erwähne nur so viel, daß *Neuberg*[1]) in einer mit dieser Frage sich beschäftigenden Mitteilung mit vollem Rechte sagt: „Nach alledem liegt der Anteil der Phosphorylierung noch nicht klar zutage, und man wird, ohne eine Bedeutung des Vorganges in Abrede stellen zu wollen, doch kaum behaupten können, daß in der Fructose-diphosphorsäure die zwangsläufige Bindungsform des Zuckers bei normalem Gärakt festgestellt worden ist. Auch ein Zusammenhang der Veresterung mit dem eigentlichen Abbau ist nicht durchsichtig, denn das phosphorylierte Zuckermolekül ist ja in die Spaltung keineswegs einbezogen, sondern soll immer wieder Hexose zurückergeben. Bei alledem darf durchaus nicht der spezifische Einfluß des Phosphations verkannt werden.“

Ausgehend von der stimulierenden Wirkung der Alkaliphosphate auf die alkoholische Gärung, wurde der Einfluß derselben auf die der alkoholischen Gärung ähnlichen Vorgänge, so in erster Linie auf die Atmung der höheren Pflanzen, von mehreren Forschern untersucht. Diesen Untersuchungen anschließend, bestrebte man sich, ein dem phosphorsäureesterifizierenden Enzym der Hefe ähnliches Enzym (eine Phosphatese) in den höheren Pflanzen nachzuweisen. Dieses Bestreben führte jedoch — wie wir später sehen werden — zu keinem positiven Resultat.

Kostytschew[2]) gab an, daß die mit Zymin vergorene Zuckerlösung die Atmung der Weizenkeime stark stimuliert, diese Wirkung konnte er aber nicht auf den Phosphatgehalt der vergorenen Zuckerlösung zurückführen. Nach den Untersuchungen von *Iwanoff*[3]) stimuliert eine 1proz. Na_2HPO_4-Lösung stark die Atmung der Weizenkeime (sie waren nicht keimfähig) und der gefrorenen Keimspitzen der Keimpflanzen von etiolierten *Vicia faba*, die Atmung der lebenden (nicht gefrorenen) Keimspitzen dagegen nicht. Das saure KH_2PO_4 hatte keine Wirkung. Bezüglich des Ursprungs der vermehrten CO_2-Ausscheidung durch die Wirkung der Phosphate sagt *Iwanoff* folgendes: „Die vermehrte CO_2-Ausscheidung geht auf Kosten des primären anaeroben Prozesses vor sich, weil sie im Wasserstoff beobachtet wird und den Atmungsquotienten steigert.“ *Iwanoff*[4]) vollführte mit verschiedenen lebenden und getöteten (pulverisierten und mit Aceton behandelten) pflanzlichen Objekten Atmungsversuche und fand, daß durch die Wirkung der Na_2HPO_4-Lösung die CO_2-Ausscheidung (insbesondere im Falle von vermahlenen Viktoriaerbsen) sich in großem Maße

[1]) *C. Neuberg*, diese Zeitschr. **103**, 320, 1920.
[2]) *S. Kostytschew*, diese Zeitschr. **15**, 164, 1908.
[3]) *N. Iwanoff*, Bull. de l'Acad. des Sciences de St. Petersburg, VI. Ser., 1910, S. 303; diese Zeitschr. **32**, 74, 1911.
[4]) *L. Iwanoff*, diese Zeitschr. **25**, 171, 1910.

erhöht. Seine Versuche mit lebenden Samen (ohne Toluol) können wegen der 92stündigen Versuchsdauer nicht als verläßlich anerkannt werden. Nach den Untersuchungen von *Zaleski* und *Reinhardt*[1]) wurde die CO_2-Ausscheidung der vom *Pisum sativum* (Viktoriasorte), *Zea Mays* und *Lupinus angustifolius* hergestellten Samenmehle durch eine 1 proz. Na_2HPO_4-Lösung stark stimuliert, auf die Atmung des Weizenmehls dagegen war sie von einer verhindernden Wirkung. Das saure Phosphat verminderte in jedem Falle die CO_2-Ausscheidung. Nach den Autoren stimuliert das Na_2HPO_4 nicht nur die anaerobe, sondern auch die aerobe Atmung, und das Phosphat kann eine direkte Wirkung auf die aerobe Atmung ausüben, denn nach den Erfahrungen der Verfasser wirkte das Phosphat auch auf die Oxydase, Katalase und Reduktase stimulierend. *Iwanoff*[2]) bezweifelte die Reizwirkung des Phosphats auf die aerobe Atmung und führte den stimulierenden Einfluß des Na_2HPO_4 auf die Oxydase, Katalase und Reduktase, auf die alkalische Reaktion des Phosphats zurück. *Zaleski* und *Reinhardt*[3]) fanden später auch, daß das Phosphat nur die anaerobe CO_2-Ausscheidung stimulierte. *Kostytschew* und *Scheloumoff*[4]) haben gefunden, daß die alkalische Na_2HPO_4-Lösung die Atmung der nicht keimfähigen Weizenkeime stark stimulierte, das neutrale Phosphat stimulierte sie in verdünnter (1proz.) Lösung nur wenig, eine konzentrierte (3proz.) Lösung verhinderte die CO_2-Ausscheidung, und nachdem eine verdünnte NaOH- oder Na_2CO_3-Lösung ebenfalls eine stimulierende Wirkung besaß, ist nach der Meinung der Verfasser die Reizwirkung der Na_2HPO_4-Lösung nicht auf die Phosphorsäure, sondern auf die alkalische Reaktion derselben zurückzuführen. Die Untersuchungen von *Zaleski* und *Marx*[5]) bestätigen auch die stimulierende Wirkung der NaOH-Lösung auf die Atmung des Erbsenmehls. Als *Kostytschew*[6]) zum erstenmal den Einfluß der Na_2HPO_4-Lösung auf die Atmung der Weizenkeime untersuchte, fand er die Vermehrung der CO_2-Ausscheidung wahrscheinlich darum nicht, weil er als Untersuchungsobjekt keimfähige Weizenkeime benutzte. Auf Grund der neueren Untersuchungen von *Kostytschew*[7]) und seinen Schülern kann es als eine endgültig entschiedene Tatsache betrachtet werden, daß das Na_2HPO_4 die CO_2-Ausscheidung der lebenden pflanzlichen Objekte nicht stimuliert (das Na_2HPO_4 kann nicht in die Zellen eindringen) und nur auf die postmortale Atmung eine Reizwirkung ausüben kann.

Aus der Tatsache, daß von den Alkaliphosphaten nur das alkalisch reagierende Na_2HPO_4 sowie NaOH und Na_2CO_3 die postmortale pflanzliche Atmung stimulieren, kann doch nicht die Folgerung gezogen werden, daß das Phosphat keine direkte Rolle im Stimulieren besitzt. Auch bei der Hefe wurde eine günstige Wirkung der alkalischen Salze auf die enzymatische alkoholische Gärung beobachtet, und im Anfang wurde die

---

[1]) *W. Zaleski* und *A. Reinhardt*, diese Zeitschr. **27**, 450, 1910.

[2]) *L. Iwanoff*, ebendaselbst **29**, 397, 1910.

[3]) *W. Zaleski* und *A. Reinhardt*, ebendaselbst **35**, 228, 1911.

[4]) *S. Kostytschew* und *A. Scheloumoff*, Jahrb. f. wissensch. Bot. **50**, 157, 1911.

[5]) *W. Zaleski* und *E. Marx*, diese Zeitschr. **43**, 1, 1912.

[6]) *S. Kostytschew*, l. c.

[7]) *S. Kostytschew*, *W. Brilliant* und *A. Scheloumoff*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **31**, 432, 1913.

Wirkung des Na_2HPO_4 auf dessen alkalische Reaktion zurückgeführt [1]). *Iwanoff* [2]) verleiht dem Phosphat eine direkte Rolle bei der Stimulierung der Atmung: „Die gesteigerte CO_2-Ausscheidung kann auf keinen Fall durch die Reizwirkung des Phosphats erklärt werden, da es auch an abgetöteten Objekten beobachtet wird. Letzterer Umstand gibt uns das Recht, die Bildung einer esterartigen Phosphor-Kohlenhydratverbindung anzunehmen." In gleichem Sinne erklärt *L. Iwanoff* [3]): „Es scheint also, daß überall, wo eine anaerobe CO_2-Ausscheidung vorliegt, eine Stimulation dieser Ausscheidung durch Phosphate erfolgt. Wir müssen also auch hier, bei höheren Pflanzen, wie bei Hefe, eine direkte unmittelbare Teilnahme der Phosphorsäure an der Ausscheidung dieser Kohlensäure annehmen." Zuerst wurde von *Zaleski* und *Reinhardt* [4]) nachgewiesen, daß in dem in Wasserstoff atmenden Erbsenmehl nebst CO_2 auch Alkohol entsteht. *Iwanoff* [5]) fand, daß in dem an der Luft atmenden Erbsenmehl (im Gegensatz zu den lebenden Samen) sich auch Alkohol bildet ($CO_2 : C_2H_6O$ = 67,8; 80). So stimuliert das Na_2HPO_4 eine solche Reaktion, bei welcher nebst CO_2 auch Alkohol entsteht. Darauf bezüglich, ob im Erbsenmehl auch die Alkoholausscheidung durch Na_2HPO_4 gesteigert wird, haben die genannten Autoren keine Versuche ausgeführt. Aus einer mit *Piroska Hoffner* gemeinsam durchgeführten Untersuchung (noch nicht publiziert) stellte sich heraus, daß das Na_2HPO_4 auch im Erbsenmehl die Ausscheidung des Alkohols steigert. Auf Grund all dieser Untersuchungen ist es sehr wahrscheinlich, daß die stimulierende Wirkung des Na_2HPO_4 auf die pflanzliche postmortale Atmung mit der Überführung der anorganischen Phosphorsäure in die organische Form in Beziehung steht, wie das bei der enzymatischen alkoholischen Gärung bekannt ist.

Iwanoff [6]) bestrebte sich, die Umwandlung des zum Erbsenmehl zugefügten Na_2HPO_4 in die organische Form nachzuweisen, darüber sagt er folgendes: „Meine Bemühungen, eine solche Synthese bei der Gärung des Erbsenmehls zu konstatieren, haben jedenfalls bis jetzt fehlgeschlagen." *Iwanoff* hält es für wahrscheinlich, daß der entstandene Phosphorsäureester während der Atmung sofort wieder zersetzt wird, und darum konnte er nicht nachgewiesen werden. Die in dieser Richtung vollführten Versuche von *Zaleski* und *Marx* [7]) führten ebenfalls zu negativen Resultaten: „Dennoch haben unsere Bemühungen, eine Synthese von Hexosephosphaten, die bei der Hefegärung sich bilden, zu finden, zu keinem positiven Resultat geführt. So konnten wir keine Bildung der organischen Phosphorsäureverbindung in Erbsensamen und Weizenkeimen sowie in den aus diesen Objekten

---

1) *E. Buchner*, *H. Buchner* und *M. Hahn*, Die Zymasegärung, S. 140, 1903.

2) *N. Iwanoff*, l. c.

3) *L. Iwanoff*, diese Zeitschr. 25, 171, 1910.

4) *W. Zaleski* und *A. Reinhardt*, l. c.

5) *L. Iwanoff*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. 29, 563, 622, 1911.

6) *Derselbe*, l. c.

7) *W. Zaleski* und *E. Marx*, l. c.

bereiteten Extrakten nach dem Zusatz von Phosphaten, Glucose und Gärungsprodukten derselben finden."

Im Gegensatz zu den negativen Resultaten der genannten Autoren gelang es mir nachzuweisen, daß der anorganische Phosphorsäuregehalt des aus Erbsenmehl und Na_2HPO_4-Lösung hergestellten Breies sich ohne Zugabe von anderen Substanzen (Zucker, vergorene Zuckerlösung) schon nach dreistündigem Stehen verringerte, nach Verlauf von 24 Stunden verschwand er fast vollständig, wobei man darauf schließen kann, daß die anorganische Phosphorsäure — mit großer Wahrscheinlichkeit durch Esterifizierung — in organische Form übergeführt wurde. Diese Reaktion verläuft durch die Wirkung eines Enzyms, denn das vorher einer höheren Temperatur ausgesetzte Erbsenmehl besaß nicht mehr die Fähigkeit, das anorganische Phosphat in organische Form zu überführen. Nach dem Versuch von *Zaleski*[1]) scheidet das mit Methylalkohol extrahierte Erbsenmehl kein CO_2 aus, und ein solches Erbsenmehl trat auch nicht mit Na_2HPO_4 in Reaktion.

Experimenteller Teil.

Zur Herstellung des Erbsenmehls wurden gesunde Erbsensamen (Viktoriasorte) 2 bis 3 Stunden lang in Wasser eingeweicht, die abgeschälten Samen bei 30° getrocknet, in einer Samenmühle gemahlen und durch ein dichtes Metallsieb durchgesiebt.

Zur Herstellung der zu den Untersuchungen gebrauchten Na_2HPO_4-Lösung wurden 25 g kristallinisches, chemisch reines Na_2HPO_4 in 500 ccm Wasser gelöst und der genaue Phosphorsäuregehalt der Lösung gravimetrisch bestimmt. 5 ccm dieser Lösung enthielten im Mittel 0,0528 g P_2O_5.

Alle Untersuchungen wurden in folgender Weise durchgeführt: Vom Erbsenmehl wurden 5 g in einem trockenen Reagenzglas von 200 ccm abgewogen, 5 ccm Na_2HPO_4-Lösung und 1 ccm Toluol hinzugefügt, dann mit einem 4 bis 5 cm langen, in einem längeren Metallrohr leicht ein- und ausschiebbaren Glasstäbchen gleichmäßig durchgerührt; das Stäbchen in die Flasche fallen lassend, ging von dem Inhalt derselben nichts verloren. Der so gewonnene Erbsenbrei wurde bei Zimmertemperatur oder im Brutschrank stehengelassen, nach Ablauf der Versuchsdauer wurden 44 ccm destillierten Wassers aus einer Bürette in die Flasche fließen gelassen, dann eine Messerspitze NaCl und 1 ccm 20proz. Essigsäure hinzugefügt, durchgeschüttelt, und nach einigen Minuten langem Stehen wurde durch ein trockenes Faltenfilter in einen trockenen Kolben abfiltriert. In 25 ccm des gewonnenen, gelblich opalisierenden Filtrats wurde die Menge der

---

[1]) *W. Zaleski*, diese Zeitschr. 31, 195, 1911.

anorganischen Phosphorsäure bestimmt, welche, abgezogen von dem Phosphorsäuregehalt der hinzugefügten 5 ccm Na_2HPO_4-Lösung, die Menge der durch das Erbsenmehl in organische Form überführten Phosphorsäure ergab. Zur Bestimmung der im Filtrat befindlichen Phosphorsäure ergab sich die Ausfällung mit Magnesiamixtur als das einfachste Verfahren, diese Methode konnte aber nicht unmittelbar angewendet werden, denn die Magnesiamixtur fällt nicht nur die anorganische Phosphorsäure, sondern auch das aus dem Erbsenmehl ausgelöste Phytin (als dessen Mg-Salz) aus. Die Menge des durch die Wirkung der Magnesiamixtur ausgeschiedenen Phytins ist nicht so klein, daß sie vernachlässigt werden könnte. So gaben z. B. 25 ccm des Filtrats von 5 g Erbsenmehl + 49 ccm Wasser + 1 ccm 20proz. Essigsäure und eine Messerspitze NaCl, mit Magnesiamixtur gefällt, einen Niederschlag, welcher ausgeglüht ein Gewicht von 15 mg hatte. Nachdem das Phytin nach den Untersuchungen von *Adler*[1]) in salpetersaurer Lösung kaum eine Zersetzung erleidet, kalte Salpetersäure zersetzt es auch nach 24 Stunden nicht, so verwendete ich zur Bestimmung der Phosphorsäure neben Phytin die Molybdänmethode. Ich vollführte die Ausfällung nach den Vorschriften von *Embden* und *Mitarbeitern*[2]) in kalter Lösung und filtrierte den ausgeschiedenen gelben Niederschlag nach 24stündigem Stehen ab. Der Gang der Bestimmung war der folgende:

Zu 25 ccm des Filtrats wurden 20 ccm Magnesiamixtur und 10 ccm Ammoniak hinzugefügt, der entstandene Niederschlag nach 24stündigem Stehen abfiltriert und mit 2½proz. Ammoniak gewaschen. Der Niederschlag wurde auf dem Filter mit 25 ccm 8proz. kalter Salpetersäure aufgelöst, die abtropfende Lösung in einem 250-ccm-Becherglas aufgefangen, das Filtrierpapier mit 25 bis 30 ccm Wasser nachgewaschen und zu den gewonnenen 50 bis 55 ccm der salpetersauren Lösung 20 ccm 25proz. Salpetersäure, 20 ccm 34proz. Ammoniumnitratlösung und 60 ccm 3proz. Ammoniummolybdatlösung hinzugefügt. Nach 24stündigem Stehen wurde die über dem gelben Niederschlag befindliche Lösung sorgfältig abfiltriert, so daß von dem Niederschlag möglichst wenig auf das Filter gelangt, der Niederschlag mit verdünnter $(NH_4)NO_3$-Lösung dekantiert, der im Becherglase und auf dem Filter zurückgebliebene Niederschlag in 25 bis 30 ccm warmen Ammoniaks aufgelöst, die Phosphorsäure aus der gewonnenen Lösung nach *Schmitz* gefällt und als $Mg_2P_2O_7$ gewogen.

Ich bemühte mich, mich davon zu überzeugen, mit welcher Genauigkeit die im Erbsenbrei zurückgebliebene anorganische Phosphorsäure mit dem beschriebenen Verfahren bestimmt werden kann; zu diesem Zwecke gab ich zu dem Erbsenmehl eine bekannte Menge Na_2HPO_4-Lösung und untersuchte gleich nach der Zugabe, also noch

---

[1]) *L. Adler*, diese Zeitschr. 70, 1, 1915.

[2]) *G. Embden*, *W. Griesbach* und *E. Schmitz*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 93, 1, 1914/15.

bevor die Umwandlung der Phosphorsäure begann, ob man mit der genannten Methode die hinzugefügte Phosphorsäure quantitativ zurückgewinnen kann.

I. Versuchsreihe.

Nr.	Erbsenmehl g	Dest. Wasser ccm	Na_2HPO_4-Lösung ccm
1	5	49	—
2	5	48	1
3	5	47	2
4	5	46	3
5	5	44	5

Zu jeder Probe wurde eine Messerspitze NaCl und 1 ccm 20proz. Essigsäure zugegeben. Die in 25 ccm der gewonnenen Filtrate vollführten Phosphorsäurebestimmungen gaben folgende Resultate:

Nr.:	1	2	3	4	5
$Mg_2P_2O_7$ g	0,0045	0,0123	0,0204	0,0284	0,0442

Diese Werte, auf 5 g Erbsenmehl umgerechnet[1]), gaben das „*gefundene*“ $Mg_2P_2O_7$. 5 ccm der zur Untersuchung gebrauchten Na_2HPO_4-Lösung gaben im Mittelwert 0,0828 g $Mg_2P_2O_7$, daraus rechnete ich die Mengen der zu den Versuchen gebrauchten 1, 2, 3 ccm Na_2HPO_4-Lösungen entsprechenden $Mg_2P_2O_7$ aus, und wenn man hierzu die Menge der unter Nr. 1 gewonnenen, auf 5 g Erbsenmehl gerechneten 0,0094 g $Mg_2P_2O_7$ addiert (aus 5 g Erbsenmehl ohne Zugabe von Phosphat gewonnener Wert), ergibt sich das „*berechnete*“ $Mg_2P_2O_7$.

Nr.	Gefundene $Mg_2P_2O_7$ g	Berechnete $Mg_2P_2O_7$ g
1	0,0094	—
2	0,0260	0,0259
3	0,0432	0,0425
4	0,0602	0,0591
5	0,0937	0,0927

Die gefundenen und berechneten Werte stimmen genügend überein, die im Erbsenbrei zurückgebliebene anorganische Phosphorsäure kann also mit der beschriebenen Methode mit der erwünschten Ge-

[1]) Bei Umrechnung muß man darauf Rücksicht nehmen, daß 5 g Erbsenmehl und 50 ccm Flüssigkeit ein Volumen von 53 ccm haben.

nauigkeit bestimmt werden, woraus auf die Fähigkeit des Erbsenmehls, die anorganische Phosphorsäure in organische Form zu überführen, geschlossen werden kann.

II. Versuchsreihe.

Nr.	Erbsenmehl g	Na_2HPO_4-Lösung ccm	Toluol ccm
1	5	5	1
2	5	5	1
3	5	5	1
4	5	5	1
5	5	5	1
6	5	5	1

In Nr. 1 und 2 wurde die Menge der anorganischen Phosphorsäure gleich nach dem Vermengen, in Nr. 3 und 4 nach 24 Stunden, in Nr. 5 und 6 nach 6 × 24 Stunden in je 25 ccm des Filtrats bestimmt. Die Proben wurden bei Zimmertemperatur (20 bis 21°) stehengelassen.

Nr.:	1	2	3	4	5	6
Versuchsdauer in Stdn.	0		24		6 × 24	
$Mg_2P_2O_7$ . . . . . mg	45,2	45,6	8,3	8,4	9,6	9,2

Aus diesen Daten kann berechnet werden, daß 5 g Erbsenmehl die Fähigkeit besitzen, in 24 Stunden 50,2 mg Phosphorsäure (P_2O_5) in organische Form zu überführen, die Menge der organisch gebundenen Phosphorsäure ergab sich nach 6 × 24 Stunden als fast ebensoviel (48,8 mg P_2O_5), demnach blieb die im atmenden Erbsenmehl während der ersten 24 Stunden entstandene organische Phosphorsäureverbindung nach 6 × 24 Stunden als solche erhalten.

III. Versuchsreihe.

Dieselben Mengen und bei derselben Temperatur wie bei der ersten Versuchsreihe, nur mit kürzerer Versuchsdauer.

Nr.:	1	2	3	4	5	6
Versuchsdauer in Stdn.	0		3		6	
$Mg_2P_2O_7$ . . . . . mg	44,8	45,2	40,6	40,7	34,9	34,7

Nach den Daten dieser Versuchsreihe vermindert sich die Menge der zum Erbsenmehl zugegebenen anorganischen Phosphorsäure schon nach Verlauf von 3 Stunden, nach 6 Stunden ist die Verminderung

noch größer. Nach den Resultaten der Rechnung ergibt sich, daß 5 g Erbsenmehl während 3 Stunden 5,9 mg, während 6 Stunden dagegen 13,9 mg Phosphorsäure in organischer Form binden.

IV. Versuchsreihe.

In dieser Reihe ließ ich je 5 ccm Na_2HPO_4-Lösung auf je 5 g Erbsenmehl bei 30° einwirken.

Nr.:	1	3	4
Versuchsdauer in Stdn.	0	6	
$Mg_2P_2O_7$ . . . . . mg	45	27,2	26,1

Nach diesen Daten verwandeln 5 g Erbsenmehl bei 30° während 6 Stunden 24,9 mg Phosphorsäure (P_2O_5), also ungefähr noch einmal soviel wie bei 20 bis 21°.

V. Versuchsreihe.

In diesen Proben gebrauchte ich ein durch Hitze inaktiviertes Mehl. Zu diesem Zwecke wurde das Mehl mit Wasser vermischt, der Brei am Wasserbade ausgetrocknet, pulverisiert und mit diesem Mehl die Versuche auf gewöhnliche Weise durchgeführt.

Nr.:	1	2	3
Versuchsdauer in Stdn.	0	24	
$Mg_2P_2O_7$ . . . . . mg	45	44,2	44,1

Diese Resultate bezeugen, daß das durch Hitze inaktivierte Erbsenmehl nicht mehr die Fähigkeit besitzt, anorganische Phosphorsäure in organische Form überzuführen, weil durch die Einwirkung der Hitze das synthetisierende Enzym zerstört wird.

VI. Versuchsreihe.

Gleich dem inaktivierten Mehl verhält sich das mit Methylalkohol extrahierte Mehl. 20 g Erbsenmehl wurden mit 80 ccm Methylalkohol bei Zimmertemperatur einen Tag lang stehengelassen, das abfiltrierte Mehl mit Methylalkohol und Äther nachgewaschen und im Vakuum getrocknet. Mit dem extrahierten Mehl vollführte ich die Untersuchungen wie gewöhnlich und fand die folgenden Resultate:

Nr.:	1	2	3
Versuchsdauer in Stdn.	0	24	
$Mg_2P_2O_7$ . . . . . mg	45,4	43,7	45,1

VII. Versuchsreihe.

Die im Erbsenbrei entstandene organische Phosphorsäureverbindung muß in der Lösung enthalten sein, welche von dem mit Magnesiamixtur ausgefällten Niederschlag abfiltriert wurde. Die in den Versuchen II, 1, II, 3, III, 4, V, 2 von dem mit Magnesiamixtur ausgefällten Niederschlag abfiltrierten Lösungen wurden eingedampft, der Rückstand nach *Neumann* verascht und qualitativ auf Phosphorsäure untersucht. Von den untersuchten Lösungen enthielt ursprünglich Nr. II, 3 das meiste, Nr. III, 4 viel weniger, Nr. II, 1 und V, 2 höchstens Spuren von der organischen Phosphorsäureverbindung. Dementsprechend ergaben sich auch die Phosphorsäurereaktionen.

Nr.:	II, 1	II, 3	III, 4	V, 2
Phosphorsäure-reaktion	Schwache Spuren	Reicher Niederschlag	Niederschlag	Schwache Spuren

Die nähere Natur und Zusammensetzung der im Erbsenmehl entstandenen organischen Phosphorsäureverbindung aufzuklären, bildet unter anderem eine Hauptaufgabe der jetzt im Gange befindlichen Untersuchungen.

Zusammenfassung.

Die Abspaltung der Phosphorsäure aus organischen Phosphorverbindungen der höheren Pflanzen wird auf die Wirkung gewisser Enzyme (Phosphatasen) zurückgeführt. In die Enzymologie des Phosphorsäurestoffwechsels gehört unter anderem auch diese noch offene Frage, ob die stimulierende Wirkung der Phosphorsäure auf die Atmung der höheren Pflanzen mit der enzymatischen Überführung der anorganischen Phosphorsäure in organische Form in Zusammenhang steht, so wie das bei der Hefe bekannt ist.

Die Untersuchungen der russischen Biochemiker *L. Iwanoff* und *W. Zaleski*, die Überführung der anorganischen Phosphorsäure in organische Form bei der Atmung der höheren Pflanzen zu konstatieren, führten *zu keinem positiven Ergebnis.*

Mit Hilfe geeigneter Untersuchungsmethoden ist es mir gelungen, zu konstatieren, daß zum Erbsenmehl zugefügte anorganische Phosphorsäure (als Na_2HPO_4) in organische Form übergeführt — höchstwahrscheinlich esterifiziert — wurde. Die Überführung der Phosphorsäure wurde durch die mit der Molybdänmethode bestimmte Abnahme der zum Erbsenmehl als Na_2HPO_4 zugefügten anorganischen Phosphorsäure und durch die — vorläufig nur mit qualitativer Reaktion beobachtete — starke Zunahme der organischen Phosphorsäure geprüft.

Die Menge der durch das Erbsenmehl esterifizierten Phosphorsäure ist bedeutend. Es werden durch 5 g Erbsenmehl bei Zimmertemperatur (20 bis 21°) während 3 Stunden 5,9 mg, nach 6 Stunden 13,8 mg und nach Ablauf von 24 Stunden 50,2 mg Phosphorsäure (P_2O_5) in organische Form übergeführt. Durch Hitze inaktiviertes, sowie durch Methylalkohol extrahiertes Erbsenmehl ist unfähig, die anorganische Phosphorsäure zu überführen, woraus folgt, daß die Esterifizierung der Phosphorsäure durch Erbsenmehl ein enzymatischer Vorgang ist.

Die jetzt im Gange befindlichen Untersuchungen haben unter anderem die wichtigste Aufgabe, die Natur und nähere Zusammensetzung der im Erbsenmehl gebildeten organischen Phosphorsäureverbindung zu bestimmen.

Die Anwendung der Neubergschen Acetaldehyd-Abfangmethode bei der alkoholischen Gärung höherer Pflanzen.

Von

J. Bodnár, Charlotte Szepessy und **Johann Ferenczy.**

(Aus dem kgl. ungarischen pflanzenbiochemischen Institut Budapest, aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität Debrecen und aus dem chemischen Institut der Universität Szeged.)

(Eingegangen am 26. August 1925.)

Wie neuerdings *Neuberg* und *Gottschalk*[1]) berichten, gelang es ihnen, mit der *Neuberg*schen Abfangmethode bei den höheren Pflanzen den *Acetaldehyd* als Zwischenprodukt der anaeroben Pflanzenatmung nachzuweisen.

Wir machten noch in den Jahren 1920/21 ähnliche Untersuchungen, deren Ergebnisse aber bisher nicht veröffentlicht wurden; nur in der von *Charlotte Szepessy* im Juni 1921 in Handschrift eingereichten Doktorarbeit fanden sie Erwähnung. Wir wollen über unsere diesbezüglichen Untersuchungen, welche zu ähnlichen Resultaten wie die Versuche *Neubergs* und *Gottschalks* geführt haben, in dieser Mitteilung kurz berichten.

Da nach den Untersuchungen von *Godlewski* und *Polzeniusz*[2]) bei der anaeroben Atmung der Erbsensamen Kohlensäure und Alkohol in demselben Verhältnis wie bei der alkoholischen Gärung sich bilden, verwendeten wir zu unseren Untersuchungen Erbsensamen (Viktoriasorte), und zwar nicht grob zerkleinerte (wie bei *Neuberg* und *Gottschalk*), sondern ganze Samen.

Die Einrichtung und Ausführung unserer Versuche war folgende: Zur Fixierung des entstehenden Acetaldehyds verwendeten wir Na_2SO_3 als Abfangmittel.

---

[1]) *C. Neuberg* und *A. Gottschalk*, diese Zeitschr. **151**, 167, 1924; **160**, 256, 1925.

[2]) *E. Godlewski* und *F. Polzeniusz*, Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie 1901, S. 226.

Es wurden von Na_2SO_3 0,5-, 1,0-, 1,5- und 2proz. Lösungen hergestellt, je 110 ccm davon in 200-ccm-Reagenzflaschen gebracht und mit Wasserdampf sterilisiert. Dann wurden je 40 g mit 0,2proz. Sublimatlösung 20 bis 30 Minuten sterilisierte und nachher mit sterilem Wasser gründlich abgewaschene Erbsensamen in die Na_2SO_3-Lösungen gebracht. Die Flaschen wurden mit mit Quetschhähnen versehenen und vorher sterilisierten Kautschukpfropfen geschlossen und nach Evakuieren im Brutschrank bei 35 bis 37° 2 bis 14 Tage aufbewahrt. Nach Ablauf der Versuchszeit wurden die Flaschen geöffnet und wenn der Inhalt unangenehm roch, wurde er nicht weiter untersucht, wenn nicht, so wurden davon mit einer sterilen Pipette einige Tropfen zur bakteriologischen Untersuchung auf Gelatine gebracht. Die Daten der folgenden Tabellen beziehen sich nur auf solche Proben, bei denen der bakteriologische Versuch negativ war.

Zum Nachweis des Acetaldehyds in den von den Erbsensamen abgegossenen Lösungen wurde die *Rimini*sche Reaktion angewandt. Wenn in der untersuchten Lösung wenig Acetaldehyd war (unter 0,06 Proz.), dann entstand eine oliv- oder blaugrünliche Färbung, und nur bei mehr Acetaldehyd war die Färbung blau. Es wurde der Acetaldehyd auch als p-Nitrophenylhydrazon identifiziert. Die Bestimmung des Acetaldehyds wurde nach der Vorschrift von *Neuberg* und *Reinfurth*[1]) durchgeführt. Die von den Erbsensamen abgegossene Sulfitlösung wurde in einen 800-ccm-Destillierkolben gebracht, 10 ccm 10proz. $BaCl_2$-Lösung, 5 g $CaCO_3$ dazu gegeben und nach Vorschrift mit Wasserdampf so lange destilliert, bis eine kleine Probe des Destillats die Nitroprussidreaktion nicht mehr gab. Im Destillat wurde der Acetaldehyd nach der Methode von *Ripper* bestimmt. Die Ergebnisse der mit Na_2SO_3-Lösung verschiedener Konzentration gemachten Versuche sind in den Tabellen I bis IV mitgeteilt. Die Lösungen enthielten in Wirklichkeit etwas weniger Na_2SO_3 als angegeben ist, da etwas vom Na_2SO_3 während der Sterilisation oxydiert wurde.

Bei den Kontrollversuchen ohne Na_2SO_3 ist Acetaldehyd nur in kaum nachweisbaren Spuren entstanden. Aus den Daten der Tabellen I bis IV ist ersichtlich, daß bei ganzen Erbsensamen die Menge des gebundenen Acetaldehyds 10 bis 12 Tage lang steigt, dann sinkt, und weiterhin, daß von den vier Sulfitlösungen in der am wenigsten konzentrierten (0,5proz.) die größte Menge Acetaldehyd entstand.

Godlewski und *Polzeniusz*[2]) machten die Erfahrung, daß mehr Kohlensäure und Alkohol entstand, wenn sie die Erbsensamen nicht in Wasser, sondern in Zuckerlösung hielten, daß also die Erbsensamen

[1]) *C. Neuberg* und *E. Reinfurth*, diese Zeitschr. **89**, 365, 1918.

[2]) *E. Godlewski* und *F. Polzeniusz*, l. c.

Tabelle I. 0,5 proz. Na_2SO_3-Lösung.

Nr.	Versuchszeit Tage	*Rimini*sche Reaktion	Acetaldehyd a mg	Acetaldehyd b mg	Auf 100 g Erbsensamen im Mittel berechneter Acetaldehyd mg
1	2	positiv	7,7	7,5	19,0
2	4	"	13,5	12,8	32,9
3	6	"	15,7	15,7	34,5
4	8	"	16,0	16,2	40,3
5	10	"	16,6	16,9	41,9
6	12	"	17,8	17,5	44,1
7	14	"	16,7	15,2	39,9

Tabelle II. 1,0 proz. Na_2SO_3-Lösung.

Nr.	Versuchszeit Tage	*Rimini*sche Reaktion	Acetaldehyd a mg	Acetaldehyd b mg	Auf 100 g Erbsensamen im Mittel berechneter Acetaldehyd mg
1	2	positiv	6,7	6,9	17,0
2	4	"	9,5	9,7	24,0
3	6	"	13,0	12,1	31,4
4	8	"	13,2	13,2	33,0
5	10	"	13,4	13,3	33,4
6	12	"	14,0	14,3	35,4
7	14	"	13,2	13,2	33,0

Tabelle III. 1,5 proz. Na_2SO_3-Lösung.

Nr.	Versuchszeit Tage	*Rimini*sche Reaktion	Acetaldehyd a mg	Acetaldehyd b mg	Auf 100 g Erbsensamen im Mittel berechneter Acetaldehyd mg
1	2	positiv	6,1	5,9	15,0
2	4	"	8,8	9,0	22,3
3	6	"	9,5	9,5	23,8
4	8	"	10,8	11,0	27,3
5	10	"	11,9	11,7	29,5
6	12	"	8,9	8,8	22,1
7	14	"	6,7	6,9	17,0

Tabelle IV. 2 proz. Na_2SO_3-Lösung.

Nr.	Versuchszeit Tage	*Rimini*sche Reaktion	Acetaldehyd a mg	Acetaldehyd b mg	Auf 100 g Erbsensamen im Mittel berechneter Acetaldehyd mg
1	2	positiv	5,1	5,3	13,0
2	4	"	8,4	8,2	20,8
3	6	"	8,8	9,0	24,8
4	8	"	9,5	9,5	23,8
5	10	"	10,6	10,4	26,3
6	12	"	10,8	10,6	26,8
7	14	"	8,8	8,8	22,0

befähigt sind, den ihnen von außen verabreichten Zucker aufzunehmen und zu vergären. Als wir auf die Erbsensamen statt reiner Na_2SO_3-Lösung zuckerhaltige (1proz. Glucose) Sulfitlösung einwirken ließen, wurde bedeutend mehr Acetaldehyd gebunden.

Tabelle V.

Nr.	Versuchszeit Tage	*Rimini*sche Reaktion	Acetaldehyd mg	Auf 100 g Erbsensamen im Mittel berechneter Acetaldehyd mg
1	2	positiv	11,3	28,3
2	4	"	17,6	44,0
3	6	"	21,7	54,3
4	8	"	23,1	57,8
5	10	"	24,4	61,0
6	12	"	25,7	64,3
7	14	"	30,4	76,0

Neuberg und *Gottschalk* erhielten mit grob zerkleinerten Erbsensamen eine größere Menge Acetaldehyd, auf 100 g Erbsensamen berechnet, waren 138 mg das Maximum, also fast das Doppelte von dem, was wir bei in Zuckerlösung atmenden ganzen Erbsensamen fanden. Dies findet seine Erklärung dadurch, daß die Berührung mit der Sulfitlösung bei den zerkleinerten Erbsensamen inniger und auf größerer Fläche stattfinden konnte als bei den ganzen Samen.

Unsere Untersuchungen mit frisch bereitetem $CaSO_3$ führten zu ähnlichen Resultaten wie die Versuche mit Na_2SO_3.

Zur Kontrolle unserer Acetaldehydbestimmungen wurde der Acetaldehyd nach *Neuberg* und *Reinfurth*[1]) auch indirekt, und zwar durch Ermittlung der im Acetaldehydbisulfit enthaltenen schwefligen Säure bestimmt. Zu dem Zwecke wurde aus der von den Erbsensamen abgegossenen Sulfitlösung mit Chlorbarium das unveränderte Sulfit gefällt, die Lösung filtriert und das aus der mit Wasserstoffsuperoxyd oxydierten Lösung gefällte $BaSO_4$ gewogen. Die Ergebnisse der indirekten Methode stimmten mit den Ergebnissen der direkten Titrierung des abdestillierten Acetaldehyds gut überein, wenn wir in Betracht ziehen, daß das $BaSO_3$ nicht ganz unlöslich ist.

Direkte Bestimmung	Indirekte Bestimmung	
Acetaldehyd mg	$BaSO_4$ g	Acetaldehyd mg
38,0	0,2212	41,8
41,0	0,2257	45,2
43,7	0,2488	47,2

[1]) *C. Neuberg* und *E. Reinfurth*, l. c.

Dann haben wir einige Versuche angestellt, um zu ermitteln, in welchem Verhältnis bei der anaeroben Atmung der Erbsensamen in Gegenwart von Na_2SO_3 der Alkohol und die Kohlensäure entstehen, und welche Menge des als Zwischenprodukt entstehenden Acetaldehyds abgefangen wird. Die Versuche wurden unter den schon beschriebenen sterilen Verhältnissen durchgeführt. Es wurden 80 g sterilisierter Erbsensamen in eine 220 ccm sterilisierte Na_2SO_3-Lösung enthaltende Reagenzflasche von 400 ccm gebracht, die Flasche mit einem doppelt durchbohrten, mit Ein- und Ausleitungsröhren und Quetschhähnen versehenen Kautschukpfropfen geschlossen, dann evakuiert und bei 30^0 aufbewahrt. Nach Ablauf der Versuchszeit wurden die Kohlensäure-, Alkohol- und Acetaldehydbestimmungen auf folgende Weise durchgeführt.

CO_2-Bestimmung.

Die freie und die durch die Lösung absorbierte Kohlensäure wurden mit einem langsamen, kohlensäurefreien Luftstrom durch zwei Chlorcalciumtürme in einen Kaliapparat übergetrieben. Um die in der Sulfitlösung als Carbonat vorhandene Kohlensäure zu bestimmen, wurde die nach Austreiben der freien Kohlensäure von den Erbsensamen abgegossene Lösung in zwei gleiche Teile geteilt. Der eine Teil (der andere diente zur Bestimmung des Alkohols und Acetaldehyds) wurde alkalisch gemacht, das vorhandene Sulfit mit 20 bis 30 Tropfen 30proz. Wasserstoffsuperoxyd zu Sulfat oxydiert (diese Oxydation vollzieht sich auch in der Kälte) und die durch Salzsäure frei gemachte Kohlensäure in denselben Kaliapparat übergetrieben. Auf diese Weise konnte die störende Wirkung des Sulfits vollkommen beseitigt werden, was auch folgender Versuch beweist: 0,5 g Na_2SO_3 + 0,5 g $CaCO_3$ gaben nach obiger Methode 0,2196 g und 0,5 g $CaCO_3$, ohne Sulfit 0,2210 g Kohlensäure.

Alkohol- und Acetaldehyd-bestimmung.

Die andere Hälfte der von den Erbsensamen abgegossenen Lösung wurde nach der bei der Acetaldehydbestimmung besprochenen Methode abdestilliert. Das Destillat wurde in zwei gleiche Teile geteilt, in einem Teil wurde der Acetaldehyd jodometrisch bestimmt, der andere Teil wurde nach der Vorschrift von *Neuberg* und *Hirsch*[1]) mit m-Phenylendiaminchlorhydrat behandelt und im aldehydfreien Destillat der Alkohol mit dem Pyknometer bestimmt.

Die Versuche mit in 0,5proz. Na_2SO_3-Lösung gehaltenen Erbsensamen gaben folgende Resultate.

---

[1]) *C. Neuberg* und *J. Hirsch*, diese Zeitschr. 98, 150, 1919.

Tabelle VI.

Nr.	Versuchszeit	CO_2	Alkohol	Aldehyd	Auf 100 g Erbsensamen berechnet			$\frac{C_2H_6O}{CO_2}$
	Tage	mg	mg	mg	CO_2 mg	Alkohol mg	Aldehyd mg	(CO_2 = 100)
1	2	282,4	279,2	15,6	353,0	349,0	19,5	104,6
2	6	387,4	384,0	30,7	480,0	480,0	37,7	108,1
3	10	503,7	472,2	33,3	629,6	590,2	46,6	100,6

Aus den Daten dieser Tabelle ist ersichtlich, daß vom als Zwischenprodukt entstehenden Acetaldehyd durchschnittlich nur 6,6 Proz. fixiert und das übrige zu Alkohol reduziert wird. Aus dem Verhältnis von Alkohol und Kohlensäure, das durchschnittlich 104,4 beträgt (bei der Berechnung wurde der Aldehyd zu Alkohol umgerechnet), kann man schließen, daß das Na_2SO_3 bei der alkoholischen Gärung der Erbsensamen im Wesen eine Wirkung ausübt, die die Reduktion eines Teiles des als Zwischenprodukt entstehenden Acetaldehyds zu Alkohol verhindert. Ähnliche Resultate erhielten wir bei Anwendung konzentrierter (2proz.) Na_2SO_3-Lösung, nur mit dem Unterschied, daß weniger CO_2 und Alkohol entstanden als mit 0,5proz. Sulfitlösung.

Tabelle VII.

Nr.	Versuchszeit	CO_2	Alkohol	Aldehyd	Auf 100 g Erbsensamen berechnet			$\frac{C_2H_6O}{CO_2}$
	Tage	mg	mg	mg	CO_2 mg	Alkohol mg	Aldehyd mg	(CO_2 = 100)
1	2	135,0	137,5	9,2	168,7	171,8	11,5	108,9
2	6	242,2	249,2	17,2	302,8	311,5	21,5	110,3
3	10	338,4	317,1	21,2	423,0	396,4	26,5	100,3

Auch aus den Untersuchungen von *Neuberg* und *Gottschalk* geht hervor, daß das Sulfit ($CaSO_3$) die Alkoholausscheidung der Erbsensamen stark zurückdrängte. Die parallelen Versuche über die alkoholische Gärung von in Wasser (Nr. 1) und in 0,5proz. Na_2SO_3-Lösung (Nr. 2) gebrachte Erbsensamen gaben die in der Tabelle VIII angeführten Resultate.

Tabelle VIII.

Nr.	Versuchszeit	CO_2	Alkohol	Aldehyd	Auf 100 g Erbsensamen berechnet			$\frac{C_2H_6O}{CO_3}$
	Tage	mg	mg	mg	CO_2 mg	Alkohol mg	Aldehyd mg	(CO_2 = 100)
1	6	1676	1728	in Spuren	2095	2160	—	103,1
2	6	364,8	359,2	28,8	456	449	36	106,5

Nach den Daten dieser Tabelle sinkt auf die Einwirkung von Na_2SO_3 mit dem starken Rückgang der Alkoholausscheidung im gleichen Verhältnis auch die Menge der ausgeatmeten Kohlensäure.

Aus den Untersuchungen *Neubergs* und *Reinfurths*[1]) ist bekannt, daß bei der bei Gegenwart von Sulfit sich vollziehenden alkoholischen Gärung neben Acetaldehyd auch Glycerin entsteht, und zwar entfällt auf jedes Molekül abgefangenen Acetaldehyds ein Molekül Glycerin. Unsere Untersuchungen über den Nachweis von Glycerin bei in Sulfitlösung atmenden Erbsensamen führten bisher zu keinem positiven Resultat, weshalb wir diese weiterhin fortsetzen.

---

[1]) *C. Neuberg* und *E. Reinfurth*, diese Zeitschr. 92, 234, 1918.

Über das Wachstum von Mikroorganismen auf bestrahlten lipoidhaltigen Nährböden. I.

Von

H. v. Euler.

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Hochschule Stockholm.)

(Eingegangen am 19. August 1925.)

Im Anschluß an systematische Versuche dieses Laboratoriums[1]) über Substanzen, welche durch Bestrahlung mit ultraviolettem Licht wachstumsfördernde Wirkungen und solche Eigenschaften annehmen, die dem antirachitischen Vitamin A 1 zugeschrieben werden, werden hier auch die übrigen A-Vitamine studiert, und besonders wird versucht, Anhaltspunkte für die Besonderheit des noch hypothetischen Körpers A 3 zu finden[2]), welcher gelegentlich als Schutzstoff gegen Infektionen betrachtet wurde.

Die Ziele der vorliegenden Untersuchung waren zum Teil methodische; es wurde versucht, ob sich bei Kultur geeigneter Mikroorganismen auf solchen Nährböden, in welche 1D-haltige und A 1-haltige Stoffe oder durch Bestrahlung erzeugte R-Faktoren[3]) eingehen, Beziehungen finden lassen zwischen der Zuwachswirkung des 1D-Faktors auf Mikroorganismen und auf höhere Tiere (Ratten). Es war für uns aber auch die Frage wegleitend, ob die deutlich infektionsschützenden Eigenschaften, welche dem Fischlebertran zugeschrieben werden, mit dem Wachstumsfaktor 1D des Tranes zusammenhängen, oder ob ein besonderer Bestandteil des Tranes antigene Eigenschaft hervorruft.

Unsere ersten hier mitzuteilenden Versuche beziehen sich auf zwei Mikroorganismen, nämlich auf Penicillium glaucum und Rhizopus

---

[1]) *Euler* und *Widell*, Sv. Vet. Akad. Arkiv f. Kemi. **9**, Nr. 15, 1924; *Euler* und *E. Erikson*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **144**, 123 u. 132, 1925; *Euler* und *Myrbäck*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **148**, 180, 1925.

[2]) *Euler*, Vitaminer och Tillväxtfaktorer. Stockholm, Wahlström u. Wikstrand, 1924.

[3]) *Euler* und *E. Erikson*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **146**, 241, 1925.

chinensis; außerdem versuchten wir, eine aus Butter isolierte, torulaartige Hefe auf fetthaltigem Agarboden wachsen zu lassen.

1. Versuche mit Penicillium glaucum.

Der angewandte Pilz stammt aus einer im Botanischen Institut der Universität Helsingfors von Herrn Prof. *Fr. Elfving* gezüchteten Kultur, die hier schon früher hinsichtlich Enzymbildung untersucht worden war. Der Stamm wurde auf einem Nährsubstrat gezüchtet, welches in folgender Weise bereitet worden war:

In 1 Liter wurden gelöst:

5 g NaCl	0,05 g $CaCl_2$
10 g Na_2HPO_4	0,001 g $FeCl_3$
10 g Na-Tartrat	10,000 g Harnstoff,

dazu 20 g Agar-Agar.

Nach der Auflösung wurde nicht filtriert. Nach zweimaligem je zweistündigen Kochen auf dem Drahtnetz wurde etwas abgekühlt und die Lösung vor dem Erstarren unter den üblichen Vorsichtsmaßregeln auf zehn *Pasteur*-Kölbchen verteilt, worauf wieder aufgekocht wurde.

Nun wurden zum Inhalt (100 ccm) je eines *Pasteur*-Kölbchens je 10 ccm Arachisöl (Steinnußöl) gegeben, und zwar in zehn Kölbchen a unbelichtetes, in vier Kölbchen b ultraviolett bestrahltes Öl. Die Bestrahlung geschah mit einer Quecksilber-Quarzlampe von Heraeus, Hanau, welche mit einer Stromstärke von 2,5 Amp. brannte. Rohrlänge 10 cm. Abstand der bestrahlten Oberfläche von der Quarzröhre 12 cm, Bestrahlungsdauer 10 Minuten.

Nach Zusatz des Öles zu der übrigen noch flüssigen Nährlösung wurde durch Schütteln eine gleichmäßige Emulsion hergestellt, welche auf Petrischalen verteilt wurde.

Nach vollständigem Abkühlen der bedeckten Petrischalen wurden die mit der Nährlösung a beschickten offen in einem Abstand von 8 cm von der Quarzröhre der Lampe während verschiedener Zeiten bestrahlt, und zwar:

Schalen:	a 0	a 2	a 10	a 20	a 60	a 120
Während Minuten .	0	2	10	20	60	120

Etwa 30 bis 35 Minuten nach der Bestrahlung wurde der Schaleninhalt (von rund 50 qcm Bodenfläche) an vier Stellen der Oberfläche durch vier etwa 3 mm lange Kreuzstriche geimpft.

Bei den bisher ausgeführten orientierenden Versuchen wurde das Wachstum des Pilzes nur durch angenäherte Ausmessung der be-

wachsenen Oberfläche festgestellt, da es sich zunächst um Vergleiche zwischen den während verschiedener Zeiten bestrahlten Schalen handelte.

Schon bei den ersten Versuchen erwiesen sich die Unterschiede im Zuwachs auf den verschieden lange bestrahlten Nährböden groß, jedenfalls erheblich größer als (mit einer Ausnahme) die Schwankungen bei Parallelversuchen.

Die Zuwachsversuche mit Penicillium wurden im Juni und Juli ausgeführt, bei einer Zimmertemperatur von 19 bis 25°.

In zwei Versuchsreihen ergaben sich die deutlichsten Ausschläge nach 18 bzw. 20 Tagen. Der Zuwachs der bewachsenen Fläche kanb im Mittel zu 150 qmm, und zwar in den Versuchen a0 geschätzt werden (Einzelwerte: 125, 160, 175, 135, 155). Der Bestrahlungseinfluß ergan sich folgendermaßen (a-Versuch):

Bestrahlungsdauer Min.	Zuwachs in 19 (18 bzw. 20) Tagen qmm
0	150
2	300
10	120
20	. 100
60	80 (Parallelvers. 180, vermutlich Infektion)
120	70

Bei den b-Versuchen[1]) kamen viel größere Schwankungen der Parallelversuche vor, nämlich: 110, 180, 200, 90. Diese Schwankungen hängen vermutlich damit zusammen, daß die Bestrahlungswirkung nur zum Teil, und zwar in ungleichem Grade in der Oberfläche zur Geltung kommt. Ungleichheiten der Emulsion machen sich besonders an der Oberfläche geltend. Wir haben zunächst Oberflächenkulturen untersucht, da wir die Methodik der Zuwachsmessungen an anaerob wachsenden Mikroorganismen noch nicht ausgebildet haben.

Ein Einfluß der Bestrahlung war nach den erhaltenen Ergebnissen deutlich bemerkbar, und zwar nach kurzer Bestrahlung etwa eine Verdoppelung der Zuwachsgeschwindigkeit.

Es wurde in Erwägung gezogen, ob während der Belichtung andere Einflüsse als die rein photochemischen Veränderungen eines Bestandteiles des Nährsubstrats zur Wirkung gekommen sein konnten. Dabei war in erster Linie an einen Wasserverlust an der Oberfläche zu denken, welcher sich über einen primären günstigen Einfluß superponiert und ihn allmählich ganz verdeckt. Die Temperatur an der bestrahlten Oberfläche stieg selbst nach viel längerer Bestrahlung höchstens 3 bis 4°

---

[1]) Dieselben waren, wie aus obigem hervorgeht, im Gegensatz zu den a-Versuchen nach Herstellung der Emulsion nicht weiter belichtet worden.

über die bei Zimmertemperatur stehenden Parallelversuche, so daß ein wesentlicher Unterschied im Wassergehalt kaum angenommen werden kann; bei einer zweiten Versuchsreihe wurde außerdem die nicht belichtete Schale 10 Minuten lang einer 5 bis 10^0 höheren Temperatur ausgesetzt, was den Wärmeeinfluß der Quecksilberlampe hätte ausgleichen müssen.

Ferner kam das in der Nähe der Quecksilberlampe auftretende Ozon als störendes Moment in Betracht[1]). Wir haben diesen Einfluß bei den Versuchen mit Penicillium nicht eliminieren können, dagegen haben wir die folgenden Versuche mit Rhizopus chin. in der Weise angestellt, daß die bestrahlten Schalen durch Quarzplatten bedeckt waren, welche abgedichtet aufgesetzt wurden. Hier kann ein Einfluß des Ozons oder der gleichzeitig entstehenden Gase als ausgeschlossen betrachtet werden.

2. Versuche mit Rhizopus chinensis.

Ich verdanke die zu diesen Versuchen verwendete Kultur Herrn Dr. *Okuda*. Der Pilz war vorher auf gelatinehaltigem Reisnährboden gezüchtet worden. Der Nährboden bei diesen Pilzversuchen unterschied sich von dem S. 24 beschriebenen dadurch, daß vor der Sterilisation noch 1 Proz. Glucose und 2 Proz. Lecithin zugegeben wurde. Letzterer Zusatz wurde gemacht, um eine gleichheitlichere und stabilere Emulsion der Lösung mit dem belichteten Öle zu erzielen. Das verwendete Lecithinpräparat war vorher hinsichtlich seiner Fähigkeit, durch ultraviolette Strahlen einen Zuwachsfaktor für Ratten zu bilden, in diesem Laboratorium von *H. Widell* und *E. Erikson* untersucht worden; es hatte sich in dieser Hinsicht erheblich unwirksamer erwiesen als Arachisöl (höchstens $^1/_5$ der Wirksamkeit dieses Öles).

Die Herstellung der Nährlösung geschah nur in einem einzigen Kolben in der oben beschriebenen Art, und zwar wurden 10 ccm Öl in 100 ccm Nährlösung emulgiert.

Der wesentlichste Unterschied gegenüber den Penicilliumversuchen ist die Verwendung kleinerer Versuchsschalen (Kristallisationsschalen von etwa 3,5 cm Durchmesser), die bei der Bestrahlung mit durchsichtigen Quarzschalen bedeckt wurden.

Bei den Rhizopusversuchen war das Flächenwachstum etwas geringer als bei den Penicilliumversuchen. Nach 3 Wochen erreichte der Zuwachs im Mittel 1,0 qcm. Der Zuwachs ließ sich wegen Ungleichförmigkeit auch schwieriger quantitativ feststellen[2]).

Die bis jetzt erhaltenen Ergebnisse sind folgende:

---

[1]) Vgl. *Zilva*, Biochem. Journ. 14, 740, 1920.

[2]) Für die Fortsetzung der Versuche ist eine photographische Methode in Aussicht genommen.

Bestrahlungsdauer Min.	Zuwachs in 28 Tagen qcm
0	1,2
10	1,5
20	2,5—3,0
30	2
45	0,5
90	c:a 0,3

Hier erscheint der Einfluß der Bestrahlung noch größer als bei Penicillium. Die Übereinstimmung mit den Penicilliumversuchen war aber insofern nicht die erwartete, als eine Förderung des Zuwachses hier nach einer ganz anderen Bestrahlungsdauer eintrat als bei Penicillium. Dies kann natürlich damit zusammenhängen, daß andere Faktoren, wie Temperatur, Azidität und Salzgehalt des Nährbodens, ungleich weit vom Optimum entfernt waren.

Eine Analogie bieten die Rhizopusversuche mit den Penicilliumversuchen insofern, als ein deutliches Wirkungsoptimum der Bestrahlungszeit zutage tritt.

Vorversuche mit Butterhefe.

Eine Butterhefe, welche zu analogen Versuchen angewandt worden war, verdanke ich Herrn Prof. *Chr. Barthel.* Die Hefe war ursprünglich auf Butter gewachsen und von diesem Nährboden isoliert worden. Leider sind sämtliche Versuchsserien durch Infektion unbrauchbar geworden, so daß sich bis jetzt nur so viel mit einiger Wahrscheinlichkeit ergeben hat, daß bereits 10 Minuten lange Bestrahlung des Nährbodens (Agar-Agar, 2 Proz. Lecithin, Harnstoff, Glucose, Salzmischung) den Zuwachs hemmte. Dieses Ergebnis scheint auch durch neue, infektionsfreie Versuchsreihen bestätigt zu werden.

Die beobachteten Wirkungen scheinen nach unseren bis jetzt gemachten Erfahrungen mit der Gegenwart eines solchen pflanzlichen Öles im bestrahlten Nährsubstrat zusammenzuhängen, welches durch Bestrahlung mit ultraviolettem Licht Wachstumsfaktoren entstehen läßt[1]). Indessen superponieren sich über diese Wirkungen andere, so daß es bis jetzt nicht möglich ist, sich darüber auszusprechen, welche chemischen Vorgänge an den Veränderungen des Zuwachses beteiligt sind. Längere Bestrahlung läßt im Nährboden nicht nur Wachstumsfaktoren entstehen (bzw. aktiviert entsprechende Grundsubstanzen), sondern erzeugt auch *wachstumhemmende* Körper, die sich bei längerer Bestrahlung offenbar stärker geltend machen als die Wachstums-

[1]) *Hess*, Proc. Amer. Pediat. Soc., Juni 1924; *Hess* und *Weinstock*, Proc. Soc. exp. Piol. a. Med. 1924/25, XXII, 5, 6; Journ. of biol. Chem. **62**, 301, 1924; *Steenbock*, Science **60**, 224, 1924; *Steenbock* and *Nelson*, Journ. of biol. Chem. **62**, 209, 1924; *Euler* und *Widell*, Sv. Vet. Akad. Arkiv f. Kemi **9**, Nr. 15, 1924.

faktoren. Natürlich kann die Bestrahlung auch die anfangs gebildeten A- und 1D-Stoffe selbst wieder zerstören.

Daß die hemmende Substanz ihren Ursprung in dem zum Nährsubstrat zugesetzten Öl hat, ist auch deswegen wahrscheinlich, weil Optima der Bestrahlungszeiten auch bei Versuchen mit Ratten beobachtet wurden, welche außer der üblichen Grundkost noch bestrahltes pflanzliches Öl enthielten. Ganz ausgeblieben sind solche hemmenden Wirkungen allerdings auch dann nicht, als Penicillium auf dem gleichen Nährboden wie oben angegeben, aber ohne Ölzusatz, nach verschieden langer Bestrahlung wuchsen. Immerhin waren die dann beobachteten Effekte sehr viel kleiner und unregelmäßiger.

In diesem Zusammenhang muß darauf hingewiesen werden, daß bei der Ultraviolettbestrahlung von Material, welches natürliche A-Vitamine bzw. 1D-Faktor enthält, auch Lichtzerstörung von A-Vitamin durch den Rattenversuch nachgewiesen ist [*S. S. Zilva*[1])], während, wie oben erwähnt, im gleichen Material durch Bestrahlung auch A 1 und 1D hervorgerufen werden können.

Es besteht die Möglichkeit, daß Hemmungen bzw. Inaktivierungen, wie die hier beschriebenen, sich bei biochemischen Versuchen oft über positive Zuwachswirkungen, Aktivierungen usw. superponieren, ohne daß dies, wie hier durch Variation der Belichtungszeit der Fall war, zutage tritt.

Untersuchungen über Optima der Bestrahlung an anderen Mikroorganismen, besonders pathogenen Bakterien, sind begonnen.

---

[1]) *S. S. Zilva*, Biochem. Journ. **13**, 164, 1919; **14**, 740, 1920; siehe hierzu auch *Špinka*, diese Zeitschr. **153**, 196, 1924; *S. S. Zilva*, ebendaselbst **155**, 333, 1924.

Zur Nomenklatur
der Serumeiweißkörper und der verschiedenen Serumviskositäten.

Von

E. A. Hafner.

(Aus der physiologisch-chemischen Anstalt der Universität Basel.)

(Eingegangen am 23. August 1925.)

1. Es macht sich in letzter Zeit in verschiedenen biochemischen Arbeiten die Tendenz geltend, die Begriffe Globulin und Albumin fallen zu lassen, so z. B. wieder in einer kürzlich erschienenen Arbeit von *W. Starlinger* und *K. Hartl* (1): „An Stelle der im Streite der Meinungen stehenden Bezeichnungen ‚Globuline' und ‚Albumine' treten die nichts präjudizierenden Ausdrücke Ammonsulfat-Halb- und Ammonsulfat-Ganzsättigungsfraktion". Da wir heute ganz allgemein von der Relativität der Begriffe Globulin und Albumin überzeugt sind und andererseits aber bekannte Forscher, wie *Panum*, *Kühne*, *A. Schmidt*, *O. Hammarsten*, *F. Hofmeister*, *K. Spiro*, *E. P. Pick* und andere, dieselben Begriffe mit Erfolg verwendet haben, scheint es uns der Mühe wert, auf diese Frage etwas näher einzugehen. Es ist von uns darauf hingewiesen worden (2), daß der konventionell gebildete Begriff Globulin nicht nur biologisch seine Berechtigung hat, sondern auch physikalisch-chemisch klar definierbar ist. Es ist deshalb hervorzuheben, daß bis heute kein einziger triftiger Grund zum Verlassen der Begriffe Albumin und Globulin vorliegt.

K. Spiro, *B. Haake*, *E. Fuld* und *E. P. Pick* haben durch die fraktionierte Salzfällung gezeigt, daß im Sinne der Salzfällung die Globuline komplexer Natur sind. Sie bilden aber insofern eine Einheit, als sie sich von den Albuminen wesentlich in ihrer Aussalzbarkeit und Löslichkeit unterscheiden.

E. A. Hafner und *L. v. Kürthy* (3) (4) haben nun gefunden, daß bei Verwendung ein und desselben Salzes die Aussalzbarkeit um so größer ist, je geringer die elektrische Polarisierbarkeit der Stoffe ist. Die Theorie ist später von *P. Debye* und *Mc Aulay* (5) quantitativ formuliert worden. *Die Globuline haben somit eine geringere Polarisierbar-*

keit als die Albumine. Nun hängen, wie allgemein bekannt, elektrische Polarisierbarkeit und Molekularrefraktion eines Stoffes nach *Lorenz-Lorentz* (6) zusammen:

$$P = \frac{3}{4\pi}\frac{M}{d}\frac{n^2-1}{n^2+2}$$

wobei M = Molekulargewicht,
d = Dichte,
π = 3,14 . . . ,
n = Brechungsexponent,
P = elektrische Polarisierbarkeit.

Die Molekularrefraktion aber ist infolge ihrer Empfindlichkeit gegenüber konstitutiven Einflüssen ein vorzügliches Mittel in den Händen des Strukturchemikers (7). Nach dem Vorhergehenden erfaßt also die Aussalzung Körpergruppen ähnlicher, chemischer Struktur, d. h. *die Aussalzung der Eiweißkörper charakterisiert diese nicht nur nach ihrer Löslichkeit als Globuline und Albumine, sondern differenziert sie auch als strukturchemisch zusammengehörende Eiweißgruppen.* Dies steht in guter Übereinstimmung mit den chemischen Untersuchungen von *K. Spiro* (8) über den Glykokollgehalt der Albumine und Globuline. Diese vorläufig nur *relative* Differenzierbarkeit der Eiweißkörper in Albumine und Globuline verlangt deshalb striktes Festhalten an den einmal konventionell festgelegten Definitionen.

2. Bei der Erforschung der Kolloidstruktur des Serums ist in den letzten Jahren die Viskosimetrie vielfach zur Anwendung gekommen. Hierbei haben die verschiedenen Autoren verschiedene Funktionen zwischen der Viskosität und den Serumbestandteilen aufgestellt und dementsprechend auch verschieden benannt. Diese wurden seinerzeit von uns referiert und kritisch besprochen (9). Eine kürzlich erschienene Arbeit von *W. Starlinger* und *K. Hartl* (10) gibt uns Anlaß, auf diese Frage kurz einzugehen. Solange ein Problem zur Diskussion steht, müssen wir allgemein fordern, daß die ursprüngliche Nomenklatur, wie sie von den Autoren geprägt worden ist, zunächst unbedingt festgehalten wird. Es ist dies nicht nur eine Forderung des historischen Feingefühls, sondern auch der rationellen Verständigung. Wenn einmal eine Funktion völlig geklärt ist, d. h. wenn sie physikalisch-chemisch interpretierbar und in ihrer biologischen Bedeutung durchschaubar ist, dann ergibt sich eine rationelle Nomenklatur von selbst. Nach der Genese der verschiedenen Viskositätsfunktionen (Viskositätsfaktor, speziell Viskosität, reduzierte Viskosität, Viskositätskonzentrationsquotient bzw. Viskositätserhöhung der Serumeiweißkörper, Zustandsviskosität) ist es ohne weiteres klar, daß sie vieles gemeinsam und große Ähnlichkeit haben, da jeder folgende Autor versuchte, ausgehend von

den bereits gebildeten Beziehungen, eine eindeutigere Funktion zu formulieren. Auf diese Weise wurden bei der Bildung neuer Funktionen ältere mit verwendet. *W. Starlinger* und *K. Hartl* haben nun versucht, die Begriffe zu identifizieren bzw. die Nomenklatur zu reduzieren. Auch wir halten eine Reduktion der Nomenklatur für erwünscht, können uns aber dem Vorgehen von *Starlinger* keineswegs anschließen. Es kann nicht genug hervorgehoben werden, daß das ganze Gebiet (9) und selbst die Zustandsviskosität (11) heute noch so wenig abgeklärt sind und die Leistungsfähigkeit der verschiedenen funktionellen Ausdrücke noch ganz unabgegrenzt ist, so daß das Identifikationsbestreben von *W. Starlinger* und *K. Hartl* als verfrüht bezeichnet werden muß. Wir halten es aus diesem Grunde z. B. nicht für tunlich, η/c den Viskositätskonzentrationsquotienten (*Hafner*) mit der spezifischen Viskositätserhöhung der Serumeiweißkörper (*Petschacher*) $\frac{\eta - 1{,}02}{c}$ zusammenfallen zu lassen.

W. Starlinger und *K. Hartl* bringen für die Zustandsviskosität (Ausdruck IV) der *Starlinger*schen Arbeit eine Umbenennung in Vorschlag, weil die Bezeichnung Zustandsviskosität „präjudizierlich" gewählt worden sei, und sprechen jetzt von relativer Viskosität. Hiergegen lassen sich verschiedene Einwände erheben. Abgesehen davon, daß die Umbenennung vollkommen überflüssig ist, ist die Bezeichnung relative Viskosität schon deshalb zu verwerfen, da relative Viskosität physikalisch-chemisch die Viskosität bezogen auf die Viskosität des Wassers als Einheit bedeutet (12). Gerade in einem Grenzgebiet, wo Biologie und physikalische Chemie sich so eng berühren und in steter Wechselwirkung stehen, ist eine Doppelspurigkeit der Namengebung tunlichst zu vermeiden. Für den Ausdruck $\Delta\,\eta_1/\Delta\,\eta_0$ (9) wurde der Name Zustandsviskosität nicht „präjudizierlich" gewählt, sondern weil die mathematische Diskussion und die physikalisch-chemische Interpretation dieser Funktion ergibt, daß sie ein Maß für Zustandsänderungen der Kolloide ist, in weitgehender Unabhängigkeit von deren Konzentration. Ebensowenig halten wir die Identifizierung von η_1/η_0, der spezifischen Viskosität (*Spiro*) mit $\Delta\,\eta_1/\Delta\,\eta_0$ für korrekt. Die Begründung *W. Starlingers*: „Sachlich unrichtig scheint uns die Verwendung des Begriffes spezifische Viskosität, da im Begriff ‚spezifisch' entsprechend der herrschenden physikalischen und chemischen Ausdrucksweise die Beziehung auf 1 g-Proz. Konzentration enthalten liegt", muß als unzureichend, zum Teil als unzutreffend bezeichnet werden. Es ist allerdings richtig, daß viele extensive Größen, bezogen auf 1 g-Proz. als „spezifisch" bezeichnet werden (z. B. spezifische Refraktion, spezifische Drehung usw.). Andererseits ist aber nicht zu vergessen, daß „spezifisch" auch einen weiteren Sinn hat und dann einfach eine intensive Größe bezeichnet,

die dann keineswegs immer auf 1 g-Proz. Konzentration bezogen wird, sondern auf eine dem einzelnen Fall oder Stoff angepaßte Einheit (z. B. zpezifisches Gewicht, spezifischer Widerstand, spezifische Induktion usw.). In diesem Sinne erscheint uns die Bezeichnung *P. Spiros* für η_1/η_0 als spezifische Viskosität durchaus als zutreffend.

Daß es sich hier nicht um einen bloßen Streit um Worte handelt, soll die folgende Tabelle (9) illustrieren. Die prozentualen Differenzen zwischen Fall I und II der verschiedenen Funktionen bringen ihre Wesensverschiedenheit zum Ausdruck.

Tabelle (9).

Fall	Viskositäts-konzentrations-quotient	Spez. Viskosität	Spez. Viskositäts-erhöhung der Serumeiweiß-körper	Zustands-viskosität	
				m	n
I Diabetes mellitus .	0,23	1,139	0,118	0,24	1,308
II Urämie	0,27	1,146	0,115	0,21	1,375
Differenz*) . . Proz.	17,4	0,8	2,55	12,5	5,1

*) Wobei die Größe des Falles I = 100 Proz. gedacht ist.

Literatur.

1) *W. Starlinger* und *K. Hartl*, Über die Methodik der quantitativen Bestimmung der Eiweißkörpergruppen des menschlichen Blutserums I, diese Zeitschr. **160**, 113, 1925. — 2) *E. A. Hafner*, Der Begriff des Serumglobulins, historisch und kritisch dargestellt, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **101**, 336, 1924. — 3) *E. A. Hafner* und *L. v. Kürthy*, Zur Kenntnis der Aussalzung, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **104**, 148, 1924. — 4) *E. A. Hafner*, Biologie und Dielektrizitätskonstante. Ergebn. d. Physiol. **24**, 566, 1925. — 5) *O. Debye* und *J. Mc Aulay*, Das elektrische Feld der Ionen und die Neutralsalzwirkung, Physikal. Zeitschr. **26**, 22, 1925. — 6) *H. A. Lorentz*, The theory of elecrons 1909. — 7) *R. Cornubert*, Réfraction et dispersion moléculaires, Rev. générale d. Sc. pures et appl. **33**, 433, 1922. — 8) *K. Spiro*, Über Nachweis und Vorkommen des Glykokolls, Zeitschr. f. physiol. Chem. **28**, 174, 1899. — 9) *E. A. Hafner*, Viskosität und Kolloidzustand I, Klin. Wochenschr. **4**, 197, 1925. — 10) *W. Starlinger* und *K. Hartl*, Die relative Viskosität der Eiweißkörper des menschlichen Blutserums, diese Zeitschr. **160**, 225, 1925. — 11) *E. A. Hafner*, Der Kolloidzustand des Euglobulins als Funktion des Dispersionsmittels, Klin. Wochenschr. **4**, 802, 1925. — 12) *Wo. Ostwald*, Grundriß der Kolloidchemie.

Über die Ionenwirkung auf die Leberfunktion und den Zuckerstoffwechsel.

I. Mitteilung: Elektrolytenwirkung auf die sekretorische Leberfunktion.

Von

N. Heianzan (Fukuoka, Japan).

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 10. August 1925.)

Die Anwendung der Ergebnisse der pyhsikalischen Chemie auf biologische und medizinische Fragen hat die Anschauungen über den Wirkungsmechanismus der körpereigenen, anorganischen Salze, die in ihren Lösungen je nach ihrer Konzentration mehr oder weniger in einzelne Ionen dissoziiert sind, bestimmend beeinflußt.

Hamburger und *Jacques Loeb* waren mit die ersten Autoren, die die grundlegende Bedeutung der anorganischen Salze für die Funktionen der Lebewesen richtig erkannt hatten, und es ist das Verdienst von *F. Kraus* (1), auch die Klinik für diese Fragen interessiert zu haben.

Kraus und seine Schüler haben an dem mit *Ringer*scher Lösung ernährten Froschherzen jene bekannten Versuche angestellt, deren Ergebnis war, daß das Ca systolisch, das K und Na diastolisch wirkt.

Nicht nur durch diese Ergebnisse, sondern auch durch zahlreiche andere experimentelle Untersuchungen unterstützt, sind sie zu der Auffassung gelangt, daß die Elektrolyten bei der Funktionstätigkeit der Zellen und Organe eine grundsätzlich wichtige Rolle spielen, und daß zwischen den vegetativen Nerven und dem Elektrolytensystem ein wichtiger Zusammenhang in dem Sinne besteht, daß die Vagusreizung K-Übergewicht an den Zellen herbeiführt und die Sympathicusreizung eine relative Ca-Vermehrung zustande kommen läßt. Umgekehrt, wenn sich durch irgend eine Ursache, z. B. künstliche Einführung von Salzen — abgesehen von der Nervenreizung —, das Ionengleichgewicht unter abnormem Zustande befindet, ist es nach der Theorie von *Kraus* und *Zondek* möglich, daß die chemischen Vorgänge und Funktionsäußerungen der Zellen je nach den relativ gesteigerten Anhäufungen einzelner Ionenarten genau so ablaufen, wie unter dem Einfluß einer entprechenden Nervenreizung. Wir können also unter Ausschaltung der Wirkung des Nervensystems, das im normalen Organismus in seiner Wirkung an das Vorhandensein der Elektrolyten-

verteilung geknüpft ist, bloß durch Änderung des Ionengleichgewichts an den Zellen ihre Funktionen und chemischen Prozesse so ablaufen lassen, wie sie sonst unter bestimmten Nervenwirkungen auftreten, oder wir können, um den Ausdruck von *Kraus* und *Zondek* zu gebrauchen, das vegetativ- und das fermentativ- bzw. oxydativ-chemische Betriebsstück sich in seiner Tätigkeit je nach Wunsch entfalten lassen; diese Veränderung des Ionengleichgewichts findet gleichzeitig im Innern der Zelle und an ihrer Umgebungsflüssigkeit statt, infolgedessen ist die kolloidale Struktur der Zellen, insbesondere die protoplasmatische Grenzfläche kolloid- und physikochemisch sich zu verändern in der Lage, z. B. treten Permeabilitätsänderungen in Begleitung mit Wasserbewegung und Aciditätsunterschiede vor und nach der Beeinflussung der Kolloidsubstanz durch Ionen auf.

Nach alledem können wir annehmen, daß das Ca und der Sympathicus einerseits, das K und der Parasympathicus andererseits gleichsinnige Effekte an den Erfolgsorganen hervorrufen, daß also zwischen diesen beiden Salzen ein antagonistisches Verhältnis besteht, was sich auch an den verschiedenen Organen und Geweben geltend machen kann. Gegenüber dieser Ansicht müssen wir uns aber doch auch die Frage gestatten, ob sich die Ca-Wirkung bloß auf eine Sympathicusreizung, und die K-Wirkung nur auf eine Vagusreizung allein erstreckt. Darauf komme ich später noch zurück.

Von diesen Vorstellungen ausgehend, gibt es noch eine große Reihe anderer Autoren, die der Lösung der hiermit in Zusammenhang stehenden Probleme ihre Tätigkeit gewidmet haben, indem sie einerseits diese obige Theorie zu beweisen strebten, andererseits aber noch andere, bisher unklare Fragen zu klären versuchten.

So haben in neuester Zeit viele Autoren, unter anderen z. B. *Zondek* (1), *O. Loewi* (2), *Arnoldi* (1), *Kolm* und *Pick* (3), *Sollmann* (4), *Mukojama* (5), ausgedehnte Untersuchungen angestellt hinsichtlich der Beziehungen zwischen Elektrolyten und vegetativem Nervensystem oder den Elektrolyten und unspezifischen Funktionen einzelner Organe wie auch verschiedener Stoffwechseläußerungen. Weiterhin hat *H. Zondek* (6) besonders darauf hingewiesen, daß bei Eintritt der Hormonwirkung an den Erfolgsorganen genau ebenso wie bei Nervenreizung eine bestimmte Elektrolytenverteilung in Anspruch genommen wird.

Die Beeinflussung der Leberfunktion durch Elektrolyte interessiert uns insofern, als sowohl im Hinblick auf die therapeutische Trinkkur bei Leber- und Stoffwechselkrankheiten mit natürlichen Mineralbrunnen, deren Bestandteile hauptsächlich aus anorganischen Salzen bestehen, wie auch im Hinblick auf die Theorie von *Kraus* und *Zondek* wir wissen möchten, in welchem Verhältnis die Funktionsäußerungen der Leber zu Störungen in der Elektrolytenkonzentration stehen.

Somit habe ich mir die Aufgabe gestellt, die akuten Veränderungen der Leberfunktionsäußerungen durch Einführung bestimmter auch sonst im Körper vorkommender anorganischer Salze festzustellen, indem ich von dem Gedanken ausging, daß die Leber bei normalen und pathologischen Zuständen nicht nur in bezug auf die sekretorischen, sondern auch in bezug auf ihre Funktionen im intermediären Stoffwechsel unter dem Einfluß der Elektrolyten stehe. Es gibt bei einem

solchen Studium aber eine Schwierigkeit: die Leberfunktionen sind so mannigfaltig, daß wir trotz aller bisherigen Bemühungen noch nicht so sicher wie bei anderen Organen — z. B. Magen und Nieren — genaue Prüfungsmethoden haben, die exakt und direkt uns gestatten, die verschiedenen Leberzellenfunktionen zu prüfen. Deswegen mußte ich mich darauf beschränken, mit den relativ erfolgreicheren Prüfungsmethoden die Versuche anzustellen.

Ich habe nun meine vorliegende Arbeit folgendermaßen eingeteilt:

I. Elektrolytenwirkung auf die sekretorische Leberfunktion:
  A. Einfluß auf die Gallensekretion;
  B. Einfluß auf die Ausscheidung körperfremden Farbstoffs.

II. Elektrolytenwirkung auf den Zuckerstoffwechsel:
  A. Einfluß auf den Blutzuckerspiegel bei gesunden Kaninchen;
  B. Elektrolytenwirkung auf die alimentäre Hyperglykämie;
  C. Einfluß des Ca auf den Blutzuckerspiegel bei nebennierenlosen Kaninchen.

III. Die Wirkung des Ca und Na auf die Leberfunktion in bezug auf den Zuckerstoffwechsel:
  A. bei hungernden Kaninchen;
  B. bei phosphorvergifteten Kaninchen;
  C. bei choledochusunterbundenen Kaninchen.

Das ganze Problem wird damit natürlich noch nicht gelöst; aber meine Versuche geben doch wohl eine gute Grundlage, auf der weitergebaut werden kann. Und ich selbst hoffe, mich später weiter mit diesen Fragen beschäftigen zu können.

I. Elektrolytenwirkung auf die sekretorische Leberfunktion.

A. Einfluß auf die Gallensekretion.

Bei seinen Untersuchungen zur Innervation der Leberdrüsenzellen und der Gallenwege benutzte *Adachi* (7) bei Gallenblasenfistelhunden unter anderem Ca als sympathisches und K als parasympathisches Erregungsmittel. Nach diesen Untersuchungen haben Ca und K eine deutliche Hemmungswirkung auf den Gallenabfluß; nach der intravenösen Injektion von NaCl- und Na_2SO_4-Lösung aber konnte er keine Wirkung sehen. Doch aus seinen mit anderen Nervenreiz- und Lähmungsmitteln gemachten Erfahrungen, ferner aus den Untersuchungen von *Westphal* (8), *Winkelstein* (9), *Watanabe* (10), *Müller* und *Greving* (11) können wir schließen, daß der Sympathicus der Hemmungsnerv ist und zur Verminderung der Gallenausscheidung und ihrer festen Bestandteile führt, der Vagus aber umgekehrt wirkt.

Aus diesem Grunde müßte eigentlich das Ca die Gallensekretion vermindern, das K sie vermehren.

In bezug auf die Beeinflussung der Gallenmenge und ihrer festen Bestandteile durch perorale Mineralwasserzufuhr findet *Watanabe*, daß die 5,0proz. Homburger und Mondorfer Salzlösung nach der stomachalen Zufuhr ihre allgemeine physikalische Salzwirkung in der Weise entfalten, daß die durch die Fistel ausgeschiedene Gallenmenge verringert wird. Die Wasserausscheidung wird gehemmt, die Ausscheidung der festen Bestandteile aber sowohl prozentual als auch absolut gesteigert. Dieser Angabe entgegengesetzt, veröffentlichte neuerdings *Simon* (12) eine Arbeit, in der er behauptet, nach intraduodenaler Einverleibung von hochprozentiger Karlsbader Salzlösung beim Menschen eine deutliche Vermehrung der Gallensekretion gesehen zu haben. Er hat mit der Duodenalsonde die Galle aspiriert. Zur Beurteilung der genauen quantitativen Verhältnisse sind diese Versuche natürlich völlig ungeeignet. Wenn wir nun auf die hierher gehörigen Arbeiten zahlreicher Forscher — *Naunyn* (13), *Stadelmann* (13), *Specht* (13), *Nissen* (13), *Rutherford* (13) — einen Blick werfen, dann finden wir Unterschiede in den Angaben.

Wenngleich das Studium über die Wirkungen der zweibasischen Salze von vielen Forschern in großem Ausmaß ausgeführt worden ist, so ist das über die Wirkung der einbasischen Salze doch bis jetzt nur in recht geringem Umfange geschehen.

Ich habe mich deshalb mit dem Studium der Wirkung der Kationen Ca, K, Na und Mg auf die Gallenausscheidung an Gallenblasenfistelhunden befaßt und gab den Tieren peroral, subkutan oder intravenös in verschiedenprozentigen Lösungen diese Substanzen.

Bevor ich darüber berichte, möchte ich noch besonders betonen, daß man vor der Salzgabe den Gallenabfluß beim nüchternen Tiere längere Zeit genau beobachten muß, und daß man nur dann einen Versuch mit der Salzgabe machen soll, wenn die Galle beständig und gleichmäßig aus der Fistel herauskommt.

Experimenteller Teil.

Ich hatte 23 Hunde mit permanenter Gallenblasenkanüle und unterbundenem Ductus choledochus. Davon starben vier Hunde an interkurrenten Krankheiten, drei Hunde bissen sich die Kanüle ab.

Der häufig auftretende Brechreiz, den ich bald nach der intravenösen Injektion von $CaCl_2$-Lösung bei der Dosis von 0,1 bis 0,2 g pro Kilogramm gesehen habe, ist auch von *Mukoyama* beobachtet worden. Bei der KCl-Dosis von 0,04 g pro Kilogramm sind zwei Hunde bald nach der intravenösen Injektion unter heftigen Krämpfen gestorben. Die $MgSO_4$-Dosis, bei der ich häufig beim Hunde nach der subkutanen Injektion eine Lähmungserscheinung von verschiedenem Grade sich entwickeln sah, betrug zwischen 0,03 bis 0,04 g pro Kilogramm. Die genauen Dosierungsverhältnisse finden sich in den einzelnen Tabellen.

Tabelle I.

Übersicht über die Versuchstiere.

Nr.	Rasse des Hundes	Geschlecht	Gewicht kg	Datum der Operation
1.	Schäferhund	♂	12,000	3. V. 1924
2.	Wolfshund	♂	15,200	15. V.
3.	Spitz	♀	11,300	24. V.
4.	Terrier	♀	13,000	5. VI.
5.	Wachhund	♂	20,000	1. VII.
6.	Spitz	♀	9,200	8. VII.
7.	Jagdhund	♀	15,000	20. VII.
8.	Spitz	♂	12,000	10. III. 1925
9.	Schäferhund	♀	15,000	11. III.
10.	Jagdhund	♂	12,300	12. III.
12.	Spitz	♀	10,000	8. V.
13.	Wolfshund	♂	10,200	24. V.
14.	Boxerhund	♂	9,000	26. V.
15.	Schäferhund	♂	11,000	5. VI.

Die Trockensubstanzbestimmung wurde nach der üblichen Methode vorgenommen und auf eine Gallenmenge von 100 ccm umgerechnet.

Beim nüchternen Gallenblasenfistelhunde geht die abfließende Gallenmenge, wenn das Tier 4 Stunden beobachtet wird, sukzessive ein wenig zurück (Tabelle II).

Tabelle II.

Kontrollversuch (im nüchternen Zustande).

Nr. u. Datum	Fall 1. Hund 8. 29. III. 1925		Fall 2. Hund 8. 15. III. 1925		Fall 3. Hund 9. 16. III. 1925		Fall 4. Hund 10. 20. III. 1925		Durchschnitt der gesamten Gallenmenge
	Gallenmenge in		Gallenmenge in		Gallenmenge in		Gallenmenge in		
	30 Min.	1 Std.	30 Min.	1 Std.	30 Min.	1 Std.	30 Min.	1 Std.	
1 Std.	3,6 3,5	7,1	4,2 4,0	8,2	3,0 2,4	5,4	5,0 3,7	8,7	7,6
2 Std.	3,0 5,2	8,2	4,2 3,8	8,0	2,1 2,6	4,7	5,6 4,2	9,8	7,6
3 Std.	3,5 3,1	6,6	3,3 3,9	7,2	2,8 1,4	4,2	3,6 3,6	7,2	6,3
4 Std.	2,7 2,6	5,3	3,8 2,6	6,4	1,5 2,3	3,8	4,0 4,3	8,3	5,9

a) *Ca-Versuche.*

α) Enterale Salzzufuhr (Tabelle IV).

Nachdem ich bei dem Hunde die Gallensekretionskurve nach der Gabe von 200 g gehacktem Pferdefleisch + etwa 200 ccm Aqua dest. aufgenommen hatte, ersetzte ich die 200 ccm Aqua dest. in dem Kontrollversuch durch 150 ccm einer 1 proz. $CaCl_2$-Lösung. Bei Wasserversuchen wurde im Stundendurchschnitt innerhalb 4 Stunden nach der Fütterung immer mehr Galle ausgeschieden als im Stundendurchschnitt vor der Fütterung, also bei nüchternem Tiere. Bei den $CaCl_2$-Versuchen aber war

Tabelle III

Versuche mit Fütterung (200 g Pferdefleisch und 200 ccm H_2O).

Nr. u. Datum	Fall 1. Hund 1. 6. V. Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm	Fall 2. Hund 2. 18. V. Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm	Fall 3. Hund 2. 19. V. Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm	Fall 4. Hund 3. 29. V. 1924 Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm	Durchschnitt d. gesamten Gallenmenge	Durchschnitt d. gesamten Trockensubstanz	Durchschnitt d. absoluten Trockensubstanz
Nüchterngallenmenge 1 Std.	0,9				0,3				0,2				1,2						
	0,8	2,5			0,8	1,4			0,8	1,4			1,3	3,5					
	0,8		4,7	5,68	0,3		6,1	3,06	0,4		4,0	4,20	1,0		6,0	3,98	5,2	4,23	0,22
	0,7				0,3				0,3				0,6						
	0,8	2,2			1,2	4,7			1,1	2,6			0,7	2,5					
	0,7				0,2				1,2				1,2						
Versuchsgallenmenge 1 Std.	0,7				1,9				1,4				2,0						
	0,9	2,8			1,7	4,6			1,4	3,7			1,2	5,5					
	1,2		6,4	6,11	1,0		8,1	3,59	0,9		5,8	4,25	2,3		7,2	4,05	7,0	4,50	0,32
	1,4				1,3				0,5				0,8						
	1,1	3,6			0,4	3,5			1,5	2,1			0,4	1,7					
	1,1				1,8				2,1				0,5						
Versuchsgallenmenge 2 Std.	1,0				1,9				2,2				0,5						
	1,3	3,4			2,1	4,8			2,3	5,7			1,0	2,0					
	1,1		6,6	5,34	0,8		8,7	3,53	1,2		9,0	3,28	0,5		6,3	4,02	7,6	4,40	0,31
	1,1				1,5				0,2				2,2						
	1,1	3,2			1,1	3,9			0,9	3,3			1,7	4,3					
	1,0				1,3				1,2				0,9						
													(100 ccm 1 proz. KCl-Lösung per os gegeben)						
Versuchsgallenmenge 3 Std.	1,1				1,7				2,2				0,9						
	1,0	3,0			0,7	3,6			1,2	4,5			3,1	6,0					
	0,9		6,2	5,50	1,2		7,8	3,02	1,1		6,2	3,94	2,0		10,9		6,7	4,11	0,28
	1,0				1,5				0,9				2,2						
	0,9	3,2			1,3	4,2			0,3	1,7			1,7	4,3					
	1,3				1,4				0,5				0,9						
Versuchsgallenmenge 4 Std.	0,9				1,1				1,4				0,9						
	1,0	2,9			1,1	4,0			0,6	2,8			0,3	2,3					
	1,0		5,9	4,90	1,8		7,4	3,01	0,8		5,9	3,36	1,1		4,5		6,4	3,78	0,24
	1,0				1,2				1,0				0,4						
	1,0	3,0			1,3	3,4			0,8	3,1			1,1	2,2					

Tabelle IV.
Versuche mit 150 ccm von **1,0 proz. Cl_2Ca-Lösung** und 200 g Pferdefleisch per os.

Nr. und Datum	Fall 1. Hund 3. 13. VI. 1924 Gallenmenge in 10 Min.	Fall 1. Gallenmenge in 30 Min.	Fall 1. Gallenmenge in 1 Std.	Fall 1. TS. in 100 ccm	Fall 2. Hund 15. 15. VI. 1925 Gallenmenge in 30 Min.	Fall 2. Gallenmenge in 1 Std.	Fall 2. TS. in 100 ccm	Fall 3. Hund 15. 15. VI. 1925 Gallenmenge in 30 Min.	Fall 3. Gallenmenge in 1 Std.	Fall 3. TS. in 100 ccm	Durchschnitt der gesamten Gallenmenge	Durchschnitt der gesamten Trockensubstanz	Durchschnitt der absoluten Trockensubstanz
Nüchterngallenmenge 1 Std.	1,1												
	1,2	3,0			2,3			3,7					
	0,7		5,5	3,76		5,7	4,20		5,7	4,46	5,6	4,14	0,21
	1,0												
	0,7	2,5			3,4			2,0					
	0,8												
Versuchsgallenmenge 1 Std.	0,2												
	0,0	1,3			1,8			1,3					
	1,1		2,4	4,08		4,8	3,30		3,7	3,86	3,5	3,75	0,13
	0,2												
	0,6	1,1			2,5			2,4					
	0,3												
Versuchsgallenmenge 2 Std.	0,4												
	0,5	1,1			2,2			2,3					
	0,2		1,2	4,23		3,4	3,27		3,3	4,04	2,6	3,85	0,1
	0,0												
	0,1	0,1			1,2			1,0					
	0,0												
Versuchsgallenmenge 3 Std.	0,2												
	0,1	0,3			1,2			1,5					
	0,0		0,4			2,8	3,73		2,8	3,12	2,0	3,42	0,07
	0,0												
	0,1	0,1			1,6			1,3					
	0,0												
Versuchsgallenmenge 4 Std.		0,5			2,2			2,6					
			1,7			4,5	3,07		5,0	3,81	3,7	3,44	0,13
		1,2			2,3			2,4					

die durchschnittliche Gallenausscheidung nach der Fütterung verringert im Vergleich zu der nüchternen Gallensekretion. Die perorale Zufuhr von $CaCl_2$ hemmte also die Gallensekretion. Auch die Trockensubstanz war absolut und relativ vermindert.

β) Parenterale Salzzufuhr (Tabelle V).

Diese Versuche wurden so angestellt, daß das Tier peroral 200 g gehacktes Pflerdefeisch und 200 ccm Aqua dest. erhielt und unmittelbar vor der Fütterung pro Kilogramm 0,12 bis 0,2 g $CaCl_2$ in einer 10proz. Lösung erhielt. Auch bei diesen Versuchen wurde durch das $CaCl_2$ die Gallensekretion nach der Fütterung unter die Werte für die Nüchternsekretion herabgedrückt. Der Trockensubstanzgehalt der Galle war prozentig vermehrt, aber absolut stark vermindert.

b) *NaCl-Versuche.*

α) Enterale Salzzufuhr (Tabelle VI).

Bei der Gabe von 200 g Pferdefleisch + 150 ccm einer 5proz. NaCl-Lösung wurde die Gallensekretion gegenüber den nüchternen Werten gehemmt. Die Trockensubstanz wurde prozentig nicht vermindert, absolut nahm sie ab.

β) Parenterale Salzzufuhr (Tabelle VII).

Bei der Gabe von 200 g Pferdefleisch + 200 ccm Aqua dest. und voraufgegangener intravenöser Injektion von 0,2 bis 0,3 g NaCl pro Kilogramm in einer 25proz. Lösung sank ebenfalls die Gallensekretion im Vergleich zur nüchternen Sekretion stark ab, und die Trockensubstanz nahm prozentig zu, absolut aber ab.

c) *KCl-Versuche.*

α) Enterale Salzzufuhr (Tabelle VIII).

Bei der Gabe von 150 ccm einer 1proz. KCl-Lösung per os war die Gallenabsonderung gegenüber den nüchternen Werten vermehrt und erreichte den Wert wie bei den Versuchen mit Pferdefleisch und Wasser ohne Salzgabe überhaupt. Die Trockensubstanz war prozentig und absolut vermehrt.

β) Parenterale Salzzufuhr (Tabelle IX und X).

Wenn man dem nüchternen Tiere 0,008 bis 0,02 g KCl pro Kilogramm in 1proz. und 10proz. Lösung intravenös injiziert, dann wird die Gallenmenge im Vergleich zur nüchternen Sekretion vermehrt, die Trockensubstanz ist prozentig bald vermehrt, bald vermindert, absolut immer vermehrt.

d) *$MgSO_4$-Versuche.*

α) Enterale Salzzufuhr (Tabelle XI).

Wenn man dem nüchternen Tiere 150 ccm einer 1proz. $MgSO_4$-Lösung per os gibt, so wird die Gallensekretion im Vergleich zum Nüchternwert stark vermindert. Die Trockensubstanz nimmt prozentig und absolut ab.

β) Parenterale Salzzufuhr (Tabelle XII).

Wenn man dem nüchternen Tiere 0,01 bis 0,04 ccm einer 10proz. $MgSO_4$-Lösung pro Kilogramm injiziert, sinkt die Gallenmenge im Vergleich zur nüchternen Sekretion ab; die Trockensubstanz ist prozentig und absolut vermindert.

Tabelle V. Versuche mit intravenöser Injektion von 10,0 proz. Cl_2Ca-Lösung. (200 g Pferdefleisch und 200 ccm H_2O per os gegeben)

Nr. u. Datum	Fall 1. Hund 1. 20. V.				Fall 2. Hund 2. 22. V.				Fall 3. Hund 4. 11. VI.				Fall 4. Hund 3. 12. VI. 1924				Durchschnitt der gesamten Gallenmenge	Durchschnitt der gesamten Trockensubstanz	Durchschnitt der absoluten Trockensubstanz
Dosis	0,15 g pro kg				0,12 g pro kg				0,15 g pro kg				0,2 g pro kg						
	Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm	Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm	Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm	Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm			
Nüchterngallenmenge 1 Std.	1,6				0,9				1,3				0,5						
	1,7	4,6			0,3	2,2			0,6	2,3			0,5	1,5					
	1,3		8,0	4,46	1,0		4,7	5,00	0,4		6,8	12,93	0,5		4,2	4,64	5,8	6,75	0,89
	1,5				1,5				0,4				1,2						
	1,0	3,4			0,5	2,5			1,4	4,0			0,4	2,7					
	0,9				0,5				2,2				1,1						
Versuchsgallenmenge 1 Std.	0,4				0,0				0,7				0,6						
	0,1	1,1			0,0	0,0			1,0	2,3			1,4	2,1					
	0,6		1,1	4,42	0,0		0,3		0,6		8,1	14,48	0,1		2,2	5,70	1,7	8,20	0,14
	0,0				0,0				0,1				0,1						
	0,0	0,0			0,1	0,3			0,2	0,8			0,0	0,1					
	0,0				0,2				0,5				0,0						
Versuchsgallenmenge 2 Std.	1,2				0,0				1,8				0,8						
	0,8	3,1			0,0	0,1			2,7	5,3			0,4	1,8					
	1,1		5,9	5,06	0,1		0,1		0,8		11,5	6,90	0,6		2,8	7,96	5,0	6,64	3,30
	0,8				0,0				4,6				0,1						
	0,9	2,8			0,0	0,0			0,8	6,2			0,3	1,0					
	1,0				0,0				0,8				0,6						
Versuchsgallenmenge 3 Std.	0,3				0,0				2,7				0,5						
	1,2	2,9			0,0	1,1			2,8	7,3			0,1	0,7					
	1,4		5,3	4,05	1,1		9,5	4,44	1,8		12,3	5,64	0,1		1,8	9,06	7,2	5,79	4,20
	1,0				3,3				2,3				0,1						
	0,7	2,4			1,8	8,4			1,2	5,0			0,6	1,1					
	0,7				3,3				1,5				0,4						
Versuchsgallenmenge 4 Std.	1,6				0,3														
	2,0	4,4			1,0	4,3													
	0,8		8,1	3,39	3,0		8,0	3,78									8,0		
	1,8				1,3														
	1,6	3,7			1,6	3,7													
	0,3				0,8														

Tabelle VI.
Versuch mit 150 ccm von **5 proz. ClNa**-Lösung und **200 g** Pferdefleisch per os.

Nr. u. Datum	Fall 1. Hund 1. 13. V.				Fall 2. Hund 2. 18. V.				Fall 3. Hund 1. 17. V. (Ohne Fleischgabe)				Fall 4. Hund 3. 27. V. 1924				Durchschnitt der gesamten Gallenmenge	Durchschnitt der gesamten Trockensubstanz	Durchschnitt der absoluten Trockensubstanz
	Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm	Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm	Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm	Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm			
Nüchterngallenmenge 1 Std.	1,1				1,0				2,5				1,0						
	1,1	2,9			0,8	2,5			1,6	6,0			0,6	2,2					
	0,7		4,8	5,82	0,7		6,1	4,78	1,9		10,9	5,62	0,6		5,0	5,40	6,7	5,40	0,85
	0,7				1,7				2,0				0,9						
	0,6	1,9			1,5	3,6			1,4	4,9			0,9	2,8					
	0,6				0,4				1,5				1,0						
Versuchsgallenmenge 1 Std.	0,6				0,4				0,7				0,7						
	0,7	2,2			2,8	3,2			1,1	3,1			0,4	1,7					
	0,9		8,5	5,02	0,0		8,7	4,54	1,3		6,8	6,62	0,6		3,6	5,50	4,8	5,42	0,28
	0,4				0,2				0,8				0,7						
	0,4	1,3			0,0	0,5			1,7	3,2			0,6	1,9					
	0,5				0,3				0,7				0,6						
Versuchsgallenmenge 2 Std.	0,5				0,0				0,5				0,8						
	0,6	1,5			0,2	0,5			0,3	1,4			0,0	1,8					
	0,4		3,5	4,98	0,3		3,2	5,80	0,6		2,4	9,26	1,0		4,0	4,90	3,3	6,23	0,21
	0,2				1,0				0,3				0,7						
	1,1	2,0			1,5	2,7			0,3	1,0			0,8	2,2					
	0,7				0,2				0,4				0,7						
Versuchsgallenmenge 3 Std.	1,4				1,2				0,7				0,7						
	1,2	3,3			0,8	2,5			0,4	1,4			0,7	1,6					
	0,7		5,9	3,57	0,5		4,8	4,39	0,3		1,9	11,66	0,2		4,0	3,76	4,1	5,84	0,24
	0,6				1,0				0,5				0,5						
	0,7	2,6			0,8	2,3			0,0	0,5			0,6	2,4					
	1,3				0,5				0,0				1,3						
Versuchsgallenmenge 4 Std.	0,8				1,5								0,7						
	1,5	3,3			0,8	2,9				3,8			0,6	1,8					
	1,0		6,1	3,54	0,6		6,0	3,11			6,4		0,5		4,1	3,78	5,7	3,47	0,20
	1,2				1,6								1,0						
	0,6	2,8			1,0	3,1				2,6			0,7	2,3					
	1,0				0,5								0,6						

Tabelle VII.

Versuch durch intravenöse Injektion von 25proz. NaCl-Lösung (200 g Pferdefleisch und 200 ccm H_2O per os gegeben).

Nr. und Datum	Fall 1. Hund 5. 7. VI.				Fall 2. Hund 5. 20. V.				Fall III. Hund 6. 24. VI. 1924				Durchschnitt der gesamten Gallenmenge	Durchschnitt der gesamten Trockensubstanz	Durchschnitt der absoluten Trockensubstanz
Dosis	0,2 g pro kg				0,2 g pro kg				0,3 g pro kg						
	Gallenmenge in			TS. in	Gallenmenge in			TS. in	Gallenmenge in			TS. in			
	10 Min.	30 Min.	1 Std.	100 ccm	10 Min.	30 Min.	1 Std.	100 ccm	10 Min.	30 Min.	1 Std.	100 ccm			
Nüchterngallenmenge 1 Std.	1,6 1,9 2,0 1,8 1,9 1,1	5,5 4,8	10,8	6,31	0,9 1,1 0,9 1,1 1,0 1,2	2,9 3,3	6,2	4,12	2,1 1,1 1,2 2,1 1,6 2,1	4,4 5,8	10,2	8,35	8,9	6,26	0,56
Versuchsgallenmenge 1 Std.	0,4 0,9 0,0 0,4 0,9 0,8	0,5 2,1	2,6	6,05	0,8 0,2 0,8 0,4 0,4 1,0	1,8 1,8	3,6	5,49	1,3 1,2 0,8 0,7 0,6 0,4	3,3 1,7	5,0	9,63	3,7	7,06	0,26
Versuchsgallenmenge 2 Std.	2,1 1,5 1,6 1,1 1,3 1,0	5,2 3,4	8,6	5,99	0,7 1,4 0,8 1,2 0,5 0,5	2,9 2,2	5,1	4,94	0,7 0,5 1,0 1,3 1,7 1,7	2,2 4,7	6,9	7,82	6,8	6,25	0,43
Versuchsgallenmenge 3 Std.	0,7 1,6 0,1 0,2 0,8 0,6	2,4 1,6	4,0	6,08	0,8 0,5 1,5 1,0 1,4 0,8	2,8 3,2	6,0	4,74	2,5 1,5 1,9 1,4 1,0 0,8	5,9 3,2	9,1	5,72	6,3	5,51	0,35
Versuchsgallenmenge 4 Std.		1,9 3,3	5,2		0,7 0,6 0,9 1,8 0,8 1,0	2,2 3,6	5,8	3,40					5,0		

Tabelle VIII.

Versuche mit 150 ccm von **1 proz. K Cl**-Lösung per os.

Nr. u. Datum	Fall 1. Hund 3. 30. V. Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std	TS. in 100 ccm	Fall 2. Hund 3. 1. VI. Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm	Fall 3. Hund 3. 3. VI. Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm	Fall 4. Hund 4. 13. VI. 1924 Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm	Durchschnitt d. gesamten Gallenmenge	Durchschnitt d. gesamten Trockensubstanz	Durchschnitt d. absoluten Trockensubstanz
Nüchterngallenmenge 1 Std.	0,7				0,9				0,9				1,4						
	0,5	1,9			1,0	2,6			0,8	2,4			1,1	4,1					
	0,7		4,0	5,46	0,7		4,1	3,54	0,7		5,0	5,69	1,6		10,9	3,78	6,0	4,62	0,28
	0,7				0,6				0,8				1,2						
	0,6	2,1			0,5	1,5			0,9	2,6			2,9	6,8					
	0,8				0,4				0,9				2,7						
Versuchsgallenmenge 1 Std.	1,6				0,8				1,1				3,5						
	1,2	3,7			0,8	2,7			2,8	4,5			2,7	9,1					
	0,9		6,0	5,77	1,1		5,8	3,72	0,6		7,5	6,22	2,9		15,6	4,15	8,7	4,96	0,48
	0,8				1,1				1,1				2,5						
	0,7	2,3			1,0	3,1			0,9	3,0			2,4	6,5					
	0,8				1,0				1,0				1,6						
Versuchsgallenmenge 2 Std.	0,8				1,6				1,1				1,5						
	1,5	3,4			0,6	3,1			1,2	3,1			1,9	4,8					
	1,1		7,5	4,12	0,9		6,0	3,16	0,8		6,7	3,42	1,4		7,5	2,24	6,9	3,29	0,23
	1,3				0,9				1,4				1,3						
	1,5	4,1			1,0	2,9			1,1	3,6			0,8	2,7					
	1,3				1,0				1,1				0,6						
Versuchsgallenmenge 3 Std.	0,9				0,9				1,4				0,6						
	0,8	2,7			0,6	2,4			1,0	3,2			0,8	2,1					
	1,0		5,8	3,46	0,9		4,7	4,51	0,8		5,5		0,7		3,1	3,92	4,8	3,69	0,16
	2,2				0,9				0,9				0,4						
	0,6	3,1			0,8	2,3			0,6	2,3			0,6	1,0					
	0,3				0,6				0,8				0,0						
Versuchsgallenmenge 4 Std.	0,7				0,5				0,7										
	0,0	1,6			0,6	1,5			0,8	2,3									
	0,9				0,4		2,8		0,8		4,0	2,40							
					0,2				0,5										
					0,8	1,3			0,0	1,7									
					0,3				0,6										

Tabelle IX.
Versuche durch intravenöse Injektion von 1,0proz. KCl-Lösung.

Nr. u. Datum	Fall 1. Hund 3. 3. VI.				Fall 2. Hund 3. 5. VI.				Fall 3. Hund 4. 9. VI.				Fall 4. Hund 4. 22. VII. 1924				Durchschnitt der gesamten Gallenmenge	Durchschnitt der gesamten Trockensubstanz	Durchschnitt der absoluten Trockensubstanz
Dosis	0,01 g pro kg				0,008 g pro kg				0,008 g pro kg				0,01 g pro kg						
	Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm	Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm	Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm	Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm			
Nüchterngallenmenge 1 Std.	1,1				1,3				0,7				0,8						
	1,5	4,2			2,0	4,4			0,3	1,5			0,4	1,4					
	1,6		8,0	4,96	1,1		6,9	5,15	0,5		2,5	4,67	0,2		2,2	5,70	5,0	5,12	0,26
	1,9				1,1				0,5				0,2						
	1,4	3,8			1,1	2,5			0,3	1,0			0,2	0,8					
	0,5				0,3				0,2				0,4						
Versuchsgallenmenge 1 Std.	0,7				1,5				0,6				0,0						
	2,0	4,0			1,4	4,1			0,8	1,7			1,6	3,2					
	1,3		9,2	5,05	1,2		8,8	5,19	0,3		8,6	4,60	1,6		5,6	3,40	6,8	4,56	0,81
	1,8				1,3				0,6				1,0						
	2,5	5,2			1,4	4,7			0,8	1,9			0,6	2,4					
	0,9				2,0				0,5				0,8						
Versuchsgallenmenge 2 Std.	1,0				1,3				0,2				0,8						
	0,9	2,7			1,2	3,5			0,5	1,0			1,2	2,6					
	0,8		6,0	5,34	1,0		7,5	5,20	0,3		3,3	3,96	0,6		4,9	3,12	5,4	4,41	0,24
	1,4				1,4				0,8				1,0						
	0,8	3,3			1,3	4,0			0,6	2,3			0,7	2,3					
	1,1				1,3				0,9				0,6						
Versuchsgallenmenge 3 Std.	1,1				0,1				0,7				0,7						
	0,9	2,6			0,7	2,1			0,6	1,9			0,5	2,2					
	0,6		5,6	5,23	1,3		6,9	5,06	0,6		3,4	4,02	1,0		5,0	3,19	5,2	4,37	0,22
	0,8				1,6				0,3				1,0						
	0,7	3,0			1,8	4,8			0,6	1,5			0,6	2,8					
	1,5				1,4				0,6				1,2						
Versuchsgallenmenge 4 Std.					1,8				0,2				1,0						
					0,6	3,6			0,8	1,3			1,0	2,7					
					1,2		6,7	5,19	0,3		2,0	5,26	0,7		3,7	3,63	4,1	4,70	0,19
					1,1				0,2				0,5						
					1,0	3,1			0,2	0,7			0,2	1,6					
					1,0				0,3				0,3						
Versuchsgallenmenge 5 Std.					0,3														
					0,8	1,6													
					0,5		4,5												
					0,7														
					1,1	2,9													
					1,1														

Tabelle X.

Versuche mit intravenöser Injektion von **10 proz. K Cl-Lösung.**

Nr. u. Datum	Fall 1. Hund 4. 10. IV.			Fall 2. Hund 7. 25. VII.			Fall 3. Hund 7. 24. VII. 1924			Durchschnitt der gesamten Gallenmenge
Dosis	0,02 g pro kg			0,014 g pro kg			0,02 g pro kg			
	Gallenmenge in			Gallenmenge in			Gallenmenge in			
	10 Min.	30 Min.	1 Std.	10 Min.	30 Min.	1 Std.	10 Min.	30 Min.	1 Std.	
Nüchtern-gallenmenge 1 Std.	1,2	2,7	**5,9**	0,6	1,3	**2,9**	0,1	0,6	**1,6**	**3,4**
	0,9			0,6			0,1			
	0,6			0,1			0,4			
	0,9	3,2		0,2	1,6		0,0	1,0		
	1,0			0,6			1,0			
	1,3			0,8			0,0			
Versuchs gallenmenge 1 Std.	1,3	4,1	**7,8**	0,8	2,3	**4,0**	0,0	3,2	**3,4**	**4,9**
	1,3			1,0			2,9			
	1,5			0,5			0,3			
	1,8	3,2		0,7	1,7		0,1	0,2		
	0,9			0,6			0,0			
	0,5			0,4			0,1			
Versuchs-gallenmenge 2 Std.	0,1	0,5	1,4 blutig	0,6	1,6	2,6	0,1	0,1	1,1	1,7
	0,2			0,6			0,0			
	0,2			0,4			0,0			
	0,1	0,9		0,4	1,0		1,0	1,0		
	0,3			0,3			0,0			
	0,5			0,3			0,0			
Versuchs-gallenmenge 3 Std.	0,5	1,2	3,8	0,1	0,8	3,3		0,6	1,0	2,7
	0,3			0,0						
	0,4			0,7						
	0,5	2,6		1,2	2,5			0,4		
	1,2			0,6						
	0,9			0,7						
…ersuchs- …lenmenge 4 Std.	1,7	3,8	6,1							
	1,0									
	1,1									
	1,5	2,3								
	0,5									

Tabelle VI. Versuche mit 100 ccm 1proz. $MgSO_4$-Lösung (per os gegeben).

Nr. u. Datum	Fall 1. Hund 3. 11. VI.				Fall 2. Hund 5. 28. VII.				Fall 3. Hund 6. 10. VII				Fall 4. Hund 6. 18. VII.				Fall 5. Hund 5. 16. VII.			Durchschnitt der gesamten Gallenmenge	Durchschnitt der gesamten Trockensubst.	Durchschnitt der absoluten Trockensubst.
	Gallenmenge in			TS. in 100 ccm	Gallenmenge in			TS. in 100 ccm	Gallenmenge in			TS. in 100 ccm	Gallenmenge in			TS. in 100 ccm	Gallenmenge in					
	10 M.	30 M.	1 Std.		10 M.	30 M.	1 Std.		10 M.	30 M.	1 Std.		10 M.	30 M.	1 Std.		10 M.	30 M.	1 Std.			
Nüchterngallenmenge 1 Std.	1,0				2,0				1,2				0,8				0,7					
	0,6	2,0			0,2	3,4			0,4	3,3			0,3	1,2			0,8	2,0				
	0,4		3,9	6,90	1,2		8,8	4,20	1,7		5,1	3,20	0,1		8,0	7,80	0,5		8,7	4,8	5,55	0,27
	0,3				3,2				0,4				1,2				0,7					
	1,0	1,9			1,7	4,9			0,8	1,8			0,4	1,8			0,4	1,7				
	0,6				0,0				0,6				0,2				0,6					
Versuchsgallenmenge 1 Std.	0,7				0,0				0,2				0,2				0,0					
	0,2	1,1			0,5	1,1			0,2	0,4			0,2	0,6			0,3	0,3				
	0,2		1,7	6,09	0,6		2,8	4,25	0,0		0,9		0,2		1,1	7,40	0,0		0,5	1,4	5,17	0,07
	0,2				1,0				0,1				0,2				0,1					
	0,2	0,6			0,1	1,7			0,2	0,5			0,3	0,5			0,0	0,2				
	0,2				0,6				0,2				0,0				0,1					
Versuchsgallenmenge 2 Std.	0,2				1,2				0,0				0,0				0,4					
	0,9	1,4			1,8	3,3			0,0	0,0			0,4	1,5			0,2	1,3				
	0,3		2,4	8,36	0,3		6,2	4,01	0,0		0,1		1,1		7,6	6,22	0,7		3,5	3,9	5,91	0,23
	0,3				0,4				0,0				2,5				1,3					
	0,4	1,0			2,3	2,9			0,1	0,1			1,0	6,1			0,3	2,2				
	0,3				0,2				0,0				2,6				0,6					
Versuchsgallenmenge 3 Std.	0,2				0,6				0,0				2,4				0,4					
	0,4	0,8			1,2	2,3			0,0	0,0			1,3	4,8			0,1	0,8				
	0,2		1,4	9,14	0,5		5,9	4,40	0,0		1,4		1,1		5,3	5,48	0,3		2,6	3,4	6,34	0,22
	0,1				1,7				0,0				0,5				0,8					
	0,3	0,6			1,6	3,6			0,4	1,4			0,0	0,5			0,4	1,8				
	0,2				0,3				1,0				0,0				0,6					
					100 ccm 1proz. KCl per os gegeben																	
Versuchsgallenmenge 4 Std.					0,3				0,9													
					2,2	4,9			0,5	1,8												
					2,4		7,2		0,4		2,5											
					0,7				0,4													
					1,0	2,3			0,3	0,7												
					0,6				0,0													

Tabelle XII.

Versuche mit subkutaner Injektion von **10 proz. $MgSO_4$**-Lösung.

Nr. u. Datum	Fall 1. Hund 6. 19. VI.			Fall 2. Hund 5. 10. VII.			Fall 3. Hund 3. 21. VI.			Fall 4. Hund 5. 18. VII.			Fall 5. Hund 4. 26. VI.			Fall 6. Hund 4. 26. VI.			Durchschnitt der gesamten Gallenmenge
Dosis	0,04 g pro kg			0,03 g pro kg			0,015 g pro kg			0,01 g pro kg			0,025 g pro kg			0,03 g pro kg			
	Gallenmenge in			Gallenmenge in			Gallenmenge in			Gallenmenge in			Gallenmenge in			Gallenmenge in			
	10 M.	30 M.	1 Std.	10 M.	30 M.	1 Std.	10 M.	30 M.	1 Std.	10 M.	30 M.	1 Std.	10 M.	30 M.	1 Std.	10 M.	30 M.	1 Std.	
Nüchterngallenmenge 1 Std.	1,5			2,0			1,6			1,7			0,8			0,9			
	2,5	5,8		2,0	5,2		0,6	3,7		0,5	2,5		0,3	1,1		0,4	3,0		
	1,8		**10,9**	1,2		**12,5**	1,5		**7,2**	0,3		**4,7**	0,0		**6,1**	1,7		**5,1**	**7,7**
	1,6			1,5			2,0			0,5			2,4			0,4			
	1,6	5,1		3,7	7,3		0,9	3,5		0,5	2,2		1,2	5,0		1,0	2,1		
	1,9			2,1			0,6			1,2			1,4			0,7			
Versuchsgallenmenge 1 Std.	0,9			2,1			0,8			0,6			2,0			0,2			
	1,2	4,1		1,9	5,0		0,7	2,3		0,5	1,4		0,1	2,2		0,2	0,4		
	2,0		**5,1**	1,0		**5,5**	0,8		**4,7**	0,3		**8,5**	0,1		**8,8**	0,0		**0,9**	**8,0**
	0,1			0,3			0,8			0,2			0,5			0,1			
	0,6	1,0		0,0	0,5		0,7	2,4		1,1	2,1		0,3	1,1		0,2	0,5		
	0,3			0,2			1,9			0,8			0,3			0,2			
Versuchsgallenmenge 2 Std.	0,4			1,5			0,7			0,5			1,0			0,0			
	0,6	1,3		1,3	3,6		0,8	2,3		0,2	1,9		3,2	6,6		0,0	0,0		
	0,3		1,4	0,8		6,4	0,8		5,3	1,2		3,2	2,4		11,6	0,0		0,1	4,7
	0,1			1,2			1,3			0,5			3,8			0,0			
	0,0	0,1		0,9	2,8		0,8	3,0		0,5	1,3		0,7	5,0		0,1	0,1		
	0,0			0,7			0,9			0,3			0,5			0,0			
Versuchsgallenmenge 3 Std.	0,0			1,3			0,8						1,3			0,0			
	0,0			1,3	3,3		0,6	2,3			0,7		0,7	3,4		0,0	0,0		
	0,0			0,7		5,1	0,9		4,4			3,1	1,4		9,1	0,0		1,4	4,6
	0,0			0,6			0,8						5,1			0,0			
	0,0			0,5	′1,8		0,5	2,1			2,4		0,1	5,7		0,4	1,4		
	0,0			0,7			0,8						0,5			1,0			
Versuchsgallenmenge 4 Std.	nach Injektion kamen die Lähmungen zustande, die etwa 1,30 Stunde dauerten															0,9			
																0,5	1,8		
																0,4		2,5	
																0,4			
																0,3	0,7		

e) *$NaHCO_3$-Versuche.*

(Tabelle XIII.)

Wenn man dem nüchternen Hunde 150 ccm einer 3proz. $NaHCO_3$-Lösung peroral gibt, so wird die Gallensekretion vermindert im Vergleich zu den Nüchternwerten und die Trockensubstanz prozentig und absolut vermindert.

Aus allen diesen Versuchen ergibt sich, daß Kalium die Gallensekretion, und zwar ebensowohl die Gesamtmenge wie auch den prozentigen Gehalt an der Trockensubstanz steigert. Calcium hemmt die Gallensekretion aufs stärkste; es unterdrückt sogar die Sekretion, die durch eine Fleischgabe ausgelöst wird. Hemmend wirkt ferner Natrium in seiner Chlor- und HCO_3-Verbindung und endlich auch Magnesium.

Bei der Hemmung durch Ca, Na und Mg nimmt die Trockensubstanz absolut zwar ab, aber in einigen Fällen prozentig trotzdem zu.

Die die Gallenbildung steigernde K-Wirkung kommt auch dann zur Anschauung, wenn man vorher durch Mg eine Hemmung gesetzt hat (Tabelle XI). Das gleiche sieht man natürlich erst recht, wenn man nach einer voraufgehenden Fütterung des Tieres im Stadium der abklingenden sekretionssteigernden Wirkung der Fütterung das Kalium injiziert (Tabelle III).

Die hemmenden Wirkungen der Salze zeigen sich nun ebensowohl nach der peroralen, wie auch nach der intravenösen Zufuhr der betreffenden Salze. Es kann sich also nicht um ausschließliche Wirkungen der Salze vom Darme aus handeln, wenn man nach ihrer enteralen Zufuhr die Hemmung auftreten sieht.

Es erhebt sich nun die Frage. ob die hemmenden Wirkungen der Salze auf die Gallensekretion nur dadurch zustande kommen, daß sie eine relative Wasserverarmung des Körpers bedingen, oder ob die Hemmung durch eine primäre Wirkung auf das vegetative Nervensystem bzw. auf die Leberzellen entsteht. Bei den sekretionssteigernden Kaliumwirkungen muß es sich um eine Reizung des sekretorischen Leberapparats handeln.

Um diese Frage zu entscheiden, wie die Hemmung zustande kommt, habe ich untersucht, wie die Leber nach der Injektion der den Gallenfluß herabsetzenden Salze körperfremden Farbstoff ausscheidet. Über diese Versuche berichte ich in dem folgenden Abschnitt.

Zum Schlusse möchte ich noch auf folgendes hinweisen. Bei allen meinen Versuchen könnte man einwenden, daß die Gallensekretion in Abhängigkeit von der Magensekretion stehe, daß mit einer Steigerung dieser durch K eine Vermehrung, mit einer Verminderung dieser durch die anderen Salze der Na-, Mg- und Ca-Verbindungen eine Verminderung der Gallensekretion eintrete. Nun hat aber *Pawlow* nachgewiesen, daß

Tabelle XIII.

Versuche mit 100 ccm 8 proz. $NaHCO_3$-Lösung per os.

Nr. u. Datum	Fall 1. Hund 5. 16. VI. Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm	Fall 2. Hund 6. 16. VI. Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm	Fall 3. Hund 9. 28. VII. Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	TS. in 100 ccm	Fall 4. Hund 5. 17. VI. Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	Fall 5. Hund 7. 30. VII. Gallenmenge in 10 M.	30 M.	1 Std.	Durchschnitt der gesamten Gallenmenge	Durchschnitt der gesamten Trockensubst.	Durchschnitt der absoluten Trockensubst.
Nüchterngallenmenge 1 Std.	0,4				0,7				2,2				0,5			1,3					
	0,5	1,7			0,4	1,7			1,8	4,7			0,3	1,5		1,2	4,6				
	0,8		4,0	7,70	0,6		2,6	18,45	0,7		11,8	4,16	0,7		8,7	2,1		10,8	6,5	10,10	0,66
	0,6				0,4				1,3				0,7			2,8					
	1,0	2,3			0,3	0,9			2,9	6,6			0,8	2,2		2,2	6,2				
	0,7				0,2				2,4				0,7			1,2					
Versuchsgallenmenge 1 Std.	0,3				0,0				1,4				0,4			1,2					
	1,0	2,0			0,1	0,8			0,8	2,9			0,8	1,5		1,0	3,5				
	0,7		2,6	5,26	0,7		1,8	12,10	0,7		5,8	4,28	0,3		2,1	1,3		5,5	3,5	7,21	0,25
	0,2				0,5				0,7				0,4			1,1					
	0,1	0,6			0,5	1,0			0,8	2,4			0,2	0,6		0,4	2,0				
	0,3				0,0				0,9				0,0			0,5					
Versuchsgallenmenge 2 Std.	0,2				0,0				1,2				0,1			0,4					
	0,3	0,8			0,0	0,7			1,6	5,0			0,0	0,1		0,0	0,8				
	0,3		1,4	6,66	0,7		1,0	14,24	2,2		8,1	4,12	0,0		1,5	0,4		1,3	2,7	8,34	0,23
	0,0				0,2				1,0				0,3			0,3					
	0,1	0,6			0,0	0,3			1,1	3,1			0,3	1,4		0,1	0,5				
	0,5				0,1				1,0				0,8			0,1					
Versuchsgallenmenge 3 Std.	0,6				0,8								0,5			0,0					
	0,2	1,3			0,0	0,8				4,7			0,2	1,2		0,0	0,0				
	0,5		2,9	6,16	0,0		2,6	15,81			9,9	4,25	0,5		2,5	0,0		0,0	3,6	8,74	0,31
	0,3				0,5								0,6			0,0					
	0,6	1,6			0,9	1,8				5,2			0,4	1,3		0,0	0,0				
	0,7				0,4								0,3			0,0					
…ersuchs- …llenmenge 4 Std.	0,5				0,0																
	0,4	1,0			0,0	0,4															
	0,1		2,7		0,4																
	0,7																				

Salzsäure überhaupt nur ein ganz schwacher Erreger für den Übertritt der Galle in den Darm ist, daß sie sich etwa verhält wie reines Wasser. So wird auch dieser Einwand hinfällig.

Zu meinen Versuchen mit $NaHCO_3$-Injektionen bemerke ich noch folgendes.

Die experimentelle Beweisführung dafür, daß die OH-Ionenkonzentration in den Zellen bzw. in dem Milieu durch kohlensaure Alkalien bei innerlicher Verabreichung derselben zunehmen, fehlt noch. Da die Blutalkaleszenz unter diesen Umständen, wenn auch in geringem Grade, erhöht wird, dürfen wir annehmen, daß das Natrium bic. eine Zunahme der alkalischen Valenzen zustande kommen läßt auch in den Zellen selbst und besonders an den Grenzflächen, welche eine wichtige Stelle für chemische Vorgänge und Oxydationen zu sein scheinen. Die organischen Substanzen haben bei ihren Oxydationen ein Wirkungsoptimum bei bestimmten alkalischen Valenzen, so daß das Natr. bic. in bestimmter Wirkungsweise auf die Leber Einfluß gewinnen kann.

Von diesem Gedanken ausgehend, habe ich meine Versuche mit diesem Salze an dem nüchternen Gallenblasenfistelhunde angestellt, um festzustellen, ob das Salz wirklich keine Wirkung auf die Gallensekretion besitzt, was von pharmakologischer Seite angenommen worden ist.

Ich habe mich mit Sicherheit von einer stärkeren Hemmungswirkung auf den Gallenabfluß überzeugen können, ebenso genau wie bei der Ca-Wirkung.

So fand denn auch *Leites* (14), daß das Fehlen von $NaHCO_3$ in der Nahrungsflüssigkeit die gefäßverengernde Adrenalinwirkung schwächt genau wie das Fehlen des Ca.

Das beweist, daß mein Gedanke richtig war, daß die $NaHCO_3$-Wirkung mit der Ca-Wirkung auf die Gallensekretion identisch sein muß.

Gollwitzer-Meier stellte fest, daß im Ödem die HCO_3- und Cl-Ionen höher sind als im Serum.

Aus dieser Tatsache geht hervor, daß die HCO_3- und Cl-Ionen große Bedeutung für die Wasserbewegung haben, und daß darum auch bei der Beeinflussung der Gallensekretion durch HCO_3 in meinen Versuchen eine allgemeine Salzwirkung wird zu berücksichtigen sein.

Zur Versuchstechnik ist noch folgendes zu sagen. Alle Tiere wurden gleichmäßig täglich mit 500 g Pferdefleisch und Leitungswasser ernährt. Zu dem Versuch wurde ein Tier immer genommen, nachdem es etwa 15 Stunden vorher die letzte Nahrung erhalten hatte. Dann wurde zunächst die Gallensekretion beim nüchternen Tiere 2 Stunden beobachtet und die abfließende Galle von 10 zu 10 Minuten gemessen. Wenn dann die 10-Minuten-Perioden ungefähr unter sich hinsichtlich der

Gallenmenge gleich waren, habe ich mit dem eigentlichen Versuch begonnen. In den Versuchen, in denen eine Fütterung vorgenommen werden mußte, erhielt das betreffende Tier 200 g Fleisch von seiner Tagesration bei dem Versuch.

B. Einfluß der Ionen auf die Ausscheidung körperfremder Farbstoffe durch die Leber.

Um festzustellen, ob $CaCl_2$, NaCl, KCl in der Tat einen Einfluß auf die sekretorische Leistung der Leberzellen haben, schien mir folgender Weg gangbar. Wenn man einem Hunde von etwa 11 bis 15 kg — dieses Gewicht hatten ungefähr meine Hunde — 0,1 g Indigocarmin subkutan in wässeriger Lösung in 5 ccm Wasser injiziert, so erscheint dieser Farbstoff zwischen 25 und 30 Minuten nach der Injektion in der Galle. Die Färbung der Galle nimmt allmählich zu. Man kann drei Stufen der Färbung unterscheiden. In der ersten Stufe beginnt eben die hellgelbe Galle eine Spur grün zu werden, in der zweiten Stufe ist die Farbe deutlich gelbgrün, in der dritten Stufe ist die Farbe tiefgrün und die Beimischung von Gelb verschwunden. Diese drei Stufen gehen allmählich ineinander über.

Ich machte nun die Versuche folgendermaßen. Das nüchterne Tier bekam nach einstündiger Beobachtung des Gallenabflusses die intravenöse Salzinjektion, sofort danach die subkutane Farbstoffinjektion und unmittelbar danach, bei den Calcium- und Natriumversuchen, 200 ccm Aqua dest. durch die Schlundsonde in den Magen gegossen, damit jedenfalls das Tier genügend Wasser zur Verfügung hatte zur Vermeidung der in einer Konzentrationserhöhung der Körpersäfte durch die Salzinjektion liegenden allgemeinen Salzwirkung. Denn $CaCl_2$ und NaCl wurden in hypertonischen Lösungen injiziert, KCl dagegen in hypotonischer Lösung, weshalb ich bei den KCl-Versuchen auch keine besondere Wassergabe verabreichte.

Aus der zahlreichen Literatur über die Chromodiagnostik mit Indigocarmin können wir folgendes zusammenfassend sagen.

Nach *Lepehne* (16) erscheint der Farbstoff nach intravenöser Injektion beim gesunden Menschen erst in durchschnittlich 35 Minuten. *Hatiéganu* (18) gibt an, daß bei lebergesunden Menschen der Farbstoff in 20 Minuten in die Galle übergeht. *Hesse* und *Wörner* (18) überzeugten sich, daß das Erstauftreten nach der intramuskulären Injektion von 0,2 g Indigocarmin in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung beim lebergesunden Menschen durchschnittlich in 45 Minuten stattfindet.

Winkelstein (19) sah beim gesunden Hunde nach subkutaner Injektion von 50 mg in 3 ccm H_2O die erste Farbstoffausscheidung durchschnittlich nach 25 Minuten eintreten.

Es scheint ferner festzustehen, daß das Erstauftreten des Farbstoffes in der Galle besonders bei Ikterus- und anderen Leberkrankheiten mit diffusen parenchymatösen Veränderungen, die sich klinisch in der Vergrößerung der Leber mit und ohne Ikterus äußern, in der Mehrzahl der Fälle auffällig verzögert ist, z. B. bei Ikterus simplex von über 80 bis über 120 Minuten, bei Lebercirrh. hyp. von über 70 bis über 130 Minuten (*Hesse* und *Wörner*). Bei dem mit Phosphor vergifteten Hunde verzögert sich die Farbstoffausscheidung um so mehr, je mehr Phosphor injiziert wurde. Bei 0,3 g Phosphor erfolgte das Erstauftreten nach 30 Minuten. 2 Tage vor dem Tode durch Phosphorvergiftung mit 0,5 g Gesamtmenge erschien der Farbstoff erst nach 180 Minuten (*Winkelstein*).

Aus diesem Grunde könnte das schnellere oder verzögerte Erstauftreten des Indigocarmins in der Galle unter dem Einfluß von K, Ca und Na von der etwaigen Veränderung der Leberfunktion hinsichtlich der Exkretion der Galle abhängen.

Im Durchschnitt der an vier verschiedenen Gallenblasenfistelhunden angestellten Versuche begann die Farbstoffausscheidung durch die Galle nach der subkutanen Farbstoffinjektion (0,1 g) nach 14 Minuten als erste Phase, nach 18 Minuten war die zweite Phase erreicht, nach 24 Minuten die dritte Phase. Das Eintreten des dritten Grades stimmt mit *Winkelsteins* Angaben überein (Tabelle XIV).

Tabelle XIV.

Kontrollversuche.

Nr.	Datum 1925	1. Grad Min.	2. Grad Min.	3. Grad Min.
Hund 8	20. III.	—	—	26
„ 9	26. III.	13	16	24
„ 10	27. III.	13	20	25
„ 10	1. IV.	14	18	23
„ 15	18. VI.	15	18	24
Durchschnitt		14	18	24

Man kann nun den Einwand machen, daß der Farbstoff als solcher die Leberfunktion in bezug auf die Gallensekretion herabsetzt oder steigert. Höchstens kommt das letztere in Frage, denn mit der Farbstoffausscheidung vermehrt sich etwas die Gallenmenge. Das zeigen auch meine Versuche. Das fanden auch *Hesse* und *Wörner* bei Indigocarmin und *Rosenthal* und *v. Falkenhausen* (20) bei Methylenblau.

Versuch mit Cl_2Ca-Lösung (Tabelle XV).

Durch die intravenöse Injektion von 10proz. Cl_2Ca-Lösung wurde die Farbstoffausscheidung stark verzögert.

Tabelle XV.

Versuche mit Cl_2Ca-Lösung (10proz.) (200 ccm H_2O per os).

Nr.	Datum 1925	Dosis g pro kg	Nüchterngalle in 30 Min.	Nüchterngalle in 30 Min.	1. Grad Min.	2. Grad Min.	3. Grad Min.	Versuchsgalle in 30 Min.	Versuchsgalle in 30 Min.
Hund 12	8. V.	0,2	4,5	3,5	32	34	37	2,0	3,7
„ 12	25. V.	0,2	3,7	8,1		95	117	2,5	1,5
„ 14	26. V.	0,18	3,3	4,1	23	30	70	2,5	1,8
„ 11	26. V.	0,15	3,2	9,5	20	27	35	3,8	5,0
„ 11	11. VI.	0,2	4,3	4,2	13	16	24	2,4	3,0
„ 11	15. VI.	0,18	4,7	5,8	12	16	24	3,8	8,4
Durchschnitt			3,9	5,8	20	36	51	3,0	3,9

Hund 12 (Versuch 2 in der Tabelle XV).

11 Uhr 10 Minuten bis 12 Uhr 10 Minuten, 25. Mai 1925, Gallenmenge: 11,8 ccm.

12 Uhr 10 Minuten. Im Anschluß an die intravenöse Injektion einer 10proz. Cl_2Ca-Lösung (0,2 g pro Kilogramm) wurde 0,1 g Indigocarmin in 5 ccm Wasser subkutan injiziert und 200 ccm Wasser per os gegeben.

12 Uhr 13 Minuten bis 1 Uhr 48 Minuten: Gallenmenge 4,0 ccm.

1 Uhr 50 Minuten. Da der Farbstoff nicht in der Galle erschien, gab ich dem Versuchshund ein Stück Schinkenbrötchen. Kaum hatte der Hund das Brötchen mit großer Begierde gefressen, als Farbstoffgalle plötzlich im dritten Grade in einigen Tropfen in die aus der Kanüle abfließende Galle hereintrat; diese Erscheinung dauerte nur einige Sekunden, dann ging die Farbstoffausscheidung auf den zweiten Grad zurück; auf diesem zweiten Grade blieb sie 22 Minuten. Es spricht diese Beobachtung dafür, daß die Farbstoffausscheidung durch psychophysiologische Prozesse beeinflußt werden kann.

Bei dem Hunde 11 (Versuch 5 und 6 in der Tabelle XV) hatte das Ca keinen Einfluß auf die Farbstoffausscheidung; trotzdem war die ausgeschiedene Gallenmenge bis zum Beginn des dritten Grades beträchtlich gehemmt und bei dem Versuch 5 war die Gallenmenge nur 1 ccm, bei Versuch 6 1,2 ccm.

Aus diesen drei letzten Versuchen ergibt sich, daß ein Parallelismus zwischen Galle- und Farbstoffausscheidung durch die Leberzellen nicht immer vorhanden ist.

Versuch mit NaCl-Lösung (Tabelle XVI).

Bei den Farbstoff-Kochsalzversuchen fand ich im Gegensatz zu den Kochsalzversuchen ohne gleichzeitige Farbstoffinjektion, über die ich früher berichtete, daß eine Hemmung der Gallensekretion nicht vorhanden war. Das erklärt sich wohl daraus, daß der Farbstoff als solcher sekretionssteigernd wirkt und die Kochsalzhemmung paralysiert. Der Farbstoff wurde aber bei den Kochsalzversuchen immer ungefähr gleichzeitig ausgeschieden. Das beweist, daß durch NaCl keine Hemmung der Leberzellenfunktion in der Weise hervorgerufen wird, wie durch $CaCl_2$, nachdem die Farbstoffausscheidung verzögert ist. *Wenn also NaCl* **allein** *hemmend auf die Gallenabsonderung wirkt, aber die Farbstoffausscheidung* **nicht** *verzögert, so ist der Schluß wohl berechtigt, daß die hemmende NaCl-*

Wirkung nicht die Folge einer spezifischen Leberzellähmung, sondern die Folge einer allgemeinen, durch die osmotischen Verhältnisse bedingten Salzwirkung ist.

Tabelle XVI.

Versuche mit NaCl-Lösung (10,0proz.) (200 ccm H_2O per os).

Nr.	Datum 1925	Dosis g pro kg	Nüchterngallenmenge in 30 Min.	Nüchterngallenmenge in 30 Min.	1. Grad Min.	2. Grad Min.	3. Grad Min.	Versuchsgallenmenge in 30 Min.	Versuchsgallenmenge in 30 Min.
Hund 12	14. V.	0,2	3,2	4,2	13	18	23	4,2	3,5
„ 12	1. VI.	0,25	3,2	4,2	9	11	20	5,5	5,0
„ 13	2. VI.	0,25	3,5	3,1	18	23	27	3,0	3,1
„ 11	8. VI.	0,25	5,6	6,3	17	19	22	4,5	6,1
„ 14	8. VI.	0,25	4,2	3,9	21	24	28	3,0	2,4
„ 15	17. VI.	0,25	3,1	1,3	18	23	26	2,5	1,5
Durchschnitt . .			3,8	3,8	16	19	24	3,7	3,6

Versuche mit KCl-Lösung (Tabelle XVII).

Die antagonistische Beziehung zwischen K und Ca erscheint in diesen Versuchen besonders deutlich, indem das K die Farbstoffausscheidung in allen drei Graden beschleunigt mit einer Vermehrung der ausgeschiedenen Gallenmengen. Das K befördert die Farbstoffausscheidung und der Farbstoff erscheint schon oft vor der Vermehrung der Gallenmenge.

Tabelle XVII.

Versuche mit KCl-Lösung (1,0proz.).

Nr.	Datum 1925	Dosis g pro kg	Nüchterngalle in 30 Min.	Nüchterngalle in 30 Min.	1. Grad Min.	2. Grad Min.	3. Grad Min.	Versuchsgalle in 30 Min.	Versuchsgalle in 30 Min.
Hund 12	19. V.	0,015	2,7	2,3	11	13	16	2,7	2,4
„ 12	22. V.	0,015	4,5	5,2	11	16	18	5,5	4,1
„ 12	3. VI.	0,017	2,8	3,3	13	16	19	3,0	3,5
„ 13	3. VI.	0,017	3,7	2,2	13	15	18	3,1	3,4
„ 15	15. VI.	0,02	7,8	2,8	9	14	18	4,8	3,0
Durchschnitt . .			4,1	3,1	11	15	18	3,8	3,5
Hund 11	9. VI.	0,015	4,0	3,5	—	22	25	6,5	8,1

Ergebnis.

Aus den Ergebnissen meiner Versuche über den Einfluß der Ionen auf die Gallenabsonderung wie auf die Ausscheidung des Indigocarmins durch die Leberzellen geht hervor, daß durch KCl die Gallenmenge erhöht und die Farbstoffausscheidung beschleunigt wird, daß durch $CaCl_2$ die umgekehrten Effekte erzielt werden, daß aber durch NaCl nur die Gallenmenge vermindert, aber die Farbstoffausscheidung unbeeinflußt gelassen wird. KCl und $CaCl_2$ wirken also offenbar in spezifischer Weise auf die sekretorische Leberfunktion ein, während

die hemmende Wirkung der NaCl-Injektion auf die Gallenabsonderung nur eine allgemeine Salzwirkung ist.

Bei der in viel stärkerer Abhängigkeit von dem vegetativen Nervensystem stehenden Magensekretion ruft aber beim normal innervierten *Pawlow*schen Magenblindsack eine konzentrierte, intravenöse NaCl-Injektion eine Steigerung der Sekretion hervor, an dem seiner Nerven beraubten *Bickel*schen Blindsack aber bewirkt der gleiche Eingriff eine Hemmung [*Wilenko* (21)]. Aber in diesen Versuchen waren auch die angewandten Kochsalzmengen viel bedeutender.

Die Literaturzusammenstellung findet sich am Schlusse meiner dritten Mitteilung.

Über die Ionenwirkung auf die Leberfunktion und den Zuckerstoffwechsel.

II. Mitteilung: Elektrolytenwirkung auf den Zuckerstoffwechsel.

Von

N. Heianzan.

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 10. August 1925.)

Mit 7 Abbildungen im Text.

Neben ihrer sekretorischen Funktion der Gallenabsonderung hat die Leber wichtige Aufgaben bei der Regulation des intermediären Stoffwechsels zu verrichten. Diese Aufgaben beziehen sich einmal auf den Eiweißstoffwechsel, vor allem aber auf den Fett- und Kohlehydratumsatz. Hier steht die Glykogensynthese aus dem Zucker, dem Fett und den N-freien Eiweißkomplexen und der Glykogenabbau zum Traubenzucker im Mittelpunkt des Interesses. Die Leber hilft so wesentlich bei der Regulation des Blutzuckerspiegels, indem sie die von den peripherischen Geweben verbrauchte Glucose in entsprechendem Umfang nachliefert und das Material dazu auf dem Umweg über die Glykogensynthese aus den Fettlagern und Eiweißzerfallsprodukten und den hierzu in Frage kommenden Bestandteilen der Nahrung nimmt. Aus diesem Grunde hat das Studium des Blutzuckerspiegels bei Erkrankungen der Leber immer größte Beachtung gefunden. Diese Leberfunktion in bezug auf den intermediären Kohlenhydratstoffwechsel wird nun ihrerseits wieder reguliert durch das vegetative Nervensystem. Das klassische Beispiel hierfür ist das Zuckerstichexperiment von *Claude Bernard*. Das vegetative Nervensystem steht aber nun auch in Verbindung mit innersekretorischen Drüsen, deren Produkte auf dem Blutwege wieder die Leber und die Verbrauchsorgane für den Zucker beeinflussen können. So sehen wir verschiedene Systeme funktionell zusammengekoppelt: Leber, vegetatives Nervensystem, innersekretorische Drüsen; und durch das Zusammenwirken dieser verschiedenen Faktoren wird die Zuckerbildung aus dem Glykogen beeinflußt.

Eine Hyperglykämie kann nun auf drei prinzipiell verschiedenen Wegen entstehen: 1. durch herabgesetzten Zuckerverbrauch im peripherischen Gewebe oder durch herabgesetzte Glykogenbildung, die ja auch schließlich einen verminderten Zuckerverbrauch bedeutet; 2. durch gesteigerte Glykogenumwandlung in Traubenzucker; 3. durch Freiwerden des Eiweißzuckers im Blute und vielleicht auch in der Gewebsflüssigkeit.

Der Glykogengehalt der Leber ist jedenfalls nicht allein ausschlaggebend für das Zustandekommen einer Hyperglykämie, denn nach *Bang* (22) u. a. kann auch bei einer glykogenarmen Leber Hyperglykämie durch andere Eingriffe, z. B. Adrenalininjektion beim Hungertier oder, wie ich zeigen werde, beim phosphorvergifteten Tiere erzeugt werden. Aus dieser Tatsache ergibt sich aber der wichtige Schluß, daß das Zustandekommen einer Hyperglykämie nicht notwendig von einer Mitwirkung des Leberglykogens in allen Fällen abhängig ist, und daß somit alle Funktionsprüfungen der Leber, die sich auf das Verhalten des Blutzuckers beziehen, nur mit Vorbehalt anwendbar sind. Dieser Einwand wird noch besonders gestärkt durch die Beobachtungen, die zeigen, daß auch die geschädigte Leber noch Glykogen bildet und ansetzt. *Neubauer* (23) fand so z. B. an Kaninchen, daß bei einer Schädigung der Leber nach Lävulosefütterung noch Glykogenansatz erzielt wurde, während durch Traubenzucker das nicht mehr möglich war. Bei phlorrhizinvergifteten Hungerhunden sah dagegen *Hornemann* (24) nach Glucose- oder Lävulosefütterung keinen Glykogenansatz in der Leber, obschon eine Hyperglykämie sich einstellte. Die *Hornemann*sche Beobachtung kann also so gedeutet werden, daß durch die Phlorrhizinvergiftung eine Leberschädigung gesetzt wird, die den Glykogenansatz verhindert. Hier läge dann die Beziehung einer Leberfunktionsschädigung zur Hyperglykämie vor. Daß bei der normalen Leber durch Traubenzuckerfütterung sowohl Hyperglykämie wie auch Glykogenansatz in der Leber erreicht werden kann, ist ja bekannt [*Hino* (25) u. a.].

Aus allen bisherigen Betrachtungen ergibt sich also, daß eine Hyperglykämie entstehen kann: a) auf Grund einer Leberfunktionsstörung, b) ohne das Vorliegen einer Leberfunktionsstörung. Das zeigen auch Versuche, bei denen die Hyperglykämie bei normalen Tieren durch Adrenalin- und Pilocarpininjektionen erzeugt wurde. Während nach der Adrenalininjektion regelmäßig mit der Hyperglykämie eine Glykogenverarmung in der Leber einhergeht, sieht man nach der Pilocarpininjektion trotz der Hyperglykämie bald das Leberglykogen unverändert [*Bornstein* und *Griesbach* (26) nach Versuchen an der überlebenden Leber], bald sieht man es abnehmen [*Bornstein* und *Vogel* (27)].

Hinsichtlich der Möglichkeit der Erzeugung einer Hyperglykämie besteht also kein Gegensatz zwischen dem am vegetativen Nerven-

system antagonistisch wirkenden Adrenalin und Pilocarpin. Nur ein Studium des feineren Mechanismus der Hyperglykämieentstehung nach der Adrenalin- und Pilocarpininjektion könnte hier Aufschluß geben, wie es kommt, daß die Hyperglykämie in beiden Fällen entsteht, obschon in beiden Fällen das vegetative Nervensystem antagonistisch beeinflußt wird.

Der leitende Gedanke dieser Einführung zu meinen eigenen Versuchen ist der, daß zwischen der Hyperglykämie und dem Leberglykogen Beziehungen bestehen, daß diese Beziehungen aber nicht notwendig in dem Sinne bestehen müssen, daß eine Hyperglykämie immer von Veränderungen im Leberglykogen begleitet ist, sondern daß auch eine Hyperglykämie unabhängig vom Leberglykogen entstehen kann.

Die klinische Erfahrung lehrt hierzu folgendes. *Schirokauer* (28) fand das Blutzuckerniveau bei gesunden und leberkranken Menschen auf gleicher Höhe. Auch bei dem alimentären Hyperglykämieversuch mit Glucose fanden *Offenbach* und *Hahn* (29) bei gesunden und leberkranken Menschen keinen Unterschied. Dagegen fanden *Isaak* (30), *H. Strauss* (31), *Hohlweg* (32) bei der alimentären Belastung des Stoffwechsels mit Lävulose und *Heteny* (33) mit Dextrose, daß bei leberkranken Menschen die Zuckertoleranz vermindert ist, und es deshalb zu einer protrahierten Hyperglykämie oder zu einer Glykosurie kommt. Aus diesem widersprechenden Ergebnis der klinischen Prüfung geht zum mindesten so viel hervor, daß man aus dem Verhalten des Blutzuckerspiegels allein keinen Rückschluß auf die Leberfunktion ziehen kann, daß aber bei dem alimentären Hyperglykämieversuch in vielen Fällen, aber auch nicht regelmäßig, Unterschiede sich zeigen zwischen dem Gesunden und Leberkranken.

Also auch die klinische Erfahrung lehrt, daß keine notwendigen Beziehungen zwischen Leberkrankheit und dem Verhalten des Blutzuckers bestehen.

Wenn wir nun aus den bisher besprochenen Fällen ersehen, daß man aus einer Veränderung im Blutzuckerspiegel nicht ohne weiteres auf eine Funktionsänderung der Leber rückschließen darf, dann wird man auch in den Fällen sehr vorsichtig mit einem solchen Schluß sein müssen, in denen man unter der Einwirkung von anderen Faktoren auf den Körper Blutzuckerveränderungen sieht, wofern man nicht auf anderen Wegen den direkten Nachweis bringt, daß faktisch unter solchen Einwirkungen Veränderungen in der Leberfunktion auftreten. In diesem Sinne will ich meine nun folgenden Versuche gewertet wissen.

Ich habe nun zunächst den Einfluß der intravenösen Injektion verschiedener Ionen auf den Blutzuckerspiegel bei normalen Kaninchen untersucht. Darauf habe ich dieselben Versuche wiederholt an Kaninchen, denen ich vorher entweder durch Phosphorvergiftung oder durch Unterbindung des Ductus choledochus die Leber geschädigt hatte. Hier konnte ich nun sehen, ob die Leberschädigung die Ionenwirkung

auf den Blutzuckerspiegel beeinflußte. Über diese Versuche berichte ich in der dritten Abteilung meiner Arbeit. In der vorliegenden zweiten Mitteilung wird der Einfluß der Ionen auf den Blutzuckerspiegel bei normaler Leber behandelt.

Alle Versuche der zweiten und dritten Abteilung unserer Arbeit wurden an Kaninchen gemacht, die regelmäßig etwa 15 Stunden ohne Futter gehalten worden waren. Alle akzessorischen Einflüsse, die den Blutzucker alterieren, wie Unruhe und hastige Körperbewegung des Tieres, Fesselung usw. habe ich möglichst vermieden. Ich habe das Tier mindestens ½ Stunde vor jedem Eingriff in einen kleinen Käfig gesetzt, in dem es sich nicht viel bewegen konnte. Es saß da ganz ruhig. Erst dann habe ich mit dem Versuch begonnen. Ich bestimmte zunächst in einem Intervall von 5 Minuten den Blutzucker nach der *Bang*schen Mikromethode. Alle Bestimmungen wurden doppelt ausgeführt. Unmittelbar nach der zweiten Blutentnahme injizierte ich die Ionenlösung intravenös. Wenn bei dem Vorversuch in den beiden Analysen mit dem 5-Minutenintervall die Differenz größer als 0,01 Proz. war, habe ich den ganzen Versuch als ungültig betrachtet, denn der Wert von 0,01 Proz. ist nach *Bang* die höchste Fehlergrenze. Nach meinen Versuchen schwankt der Blutzuckergehalt bei einem und demselben nüchternen Kaninchen bei mehreren Analysen innerhalb von 2 Stunden nicht mehr als 0,01 Proz.

Zu meinen Versuchen gebrauchte ich folgende wässerige Lösungen: 1- bis 5proz. $CaCl_2$ (1,22proz. isotonische Lösung); 1- oder 1,16proz. KCl (isotonische Lösung); 0,9- bis 10,0proz. NaCl; 1proz. $MgCl_2$ (isotonische Lösung).

Die Widerstandsfähigkeit gegen KCl und $CaCl_2$ ist bei verschiedenen Individuen verschieden. Die letale Dosis beträgt nach meinen Versuchen bei Kaninchen für $CaCl_2$ in 5proz. Lösung = 0,35 g, für KCl in 10,0proz. Lösung 0,05 g pro Kilo Körpergewicht. Mit Erhöhung der Konzentration sinkt die letale Dosis.

Außerdem ist es bemerkenswert, daß ich bei intravenöser Injektion mit relativ großen Dosen des Ca häufig Dyspnoe oder asphyktische Erscheinungen, die mit einem Farbumschlag des arteriellen und venösen Blutes in eine dunkelrote Farbe einhergehen, beobachten konnte. Bei nebennierenlosen und leberbeschädigten Tieren war das besonders deutlich. Da die Dyspnoe und Asphyxie auf den Blutzuckerspiegel große Einflüsse ausüben können, habe ich diese Fälle alle ausgeschlossen aus meinen Versuchen, auf die ich mich in dieser Arbeit beziehe.

Nach *Bangs* Versuchen ist die Injektionsdauer bei der Applikation des betreffenden Pharmakons von Einfluß auf den Blutzuckerspiegel. Deswegen habe ich bei allen meinen Versuchen in der Weise die Injektion gemacht, daß ich 10 ccm Lösung genau in 2 Minuten injizierte. Wie gesagt, berichte ich in meiner Arbeit nur über Versuche, die allen hier aufgeführten Anforderungen in vollkommenster Weise entsprechen.

A. Ioneneinfluß auf den Blutzucker bei gesunden Kaninchen.

Der Einfluß von intravenösen Mineralstoffinjektionen auf den Blutzuckerspiegel bei normalen Kaninchen ist vielfach studiert worden. Ganz besonders wirkten hier klärend die Arbeiten von *Kraus* und *Zondek*. *Zondek* zeigte, daß im allgemeinen die Ca-Wirkung mit den

Erscheinungen einer Sympathicusreizung, während die K-Wirkung mit denjenigen der Parasympathicuswirkung konform geht. Intravenöse Ca-Injektion macht eine Steigerung, intravenöse K-Injektion eine Senkung des Blutzuckers. Diese Wirkung des Ca und K auf den Blutzucker ist aber nicht von allen Forschern in dieser Weise gefunden worden.

Eine Blutzuckersteigerung nach der Calciuminjektion fanden außer *Zondek* und *Benatt* (34), *Barath* (35), *Underhill* und *Kleiner* (36) u. a., unbeeinflußt fanden den Blutzucker nach der Calciuminjektion *Hochfeld* (37) und *Schenk* (38). Letzterer arbeitete am Menschen bei intravenösen Gaben von 5 g $CaCl_2 + 6\,H_2O$. Eine Blutzuckersenkung nach der Kaliinjektion fanden *Zondek* und *Benatt*, ferner *Kylin* und *Engel* (39), dagegen fand *Hochfeld* keine Wirkung. Außer dem Kali und Calcium ist auch das Kochsalz in seiner Wirkung auf den Blutzucker untersucht worden. Die Kochsalzglykosurie wurde durch *Külz* (40), *Bock* (40), *Hoffmann* (40), *Bürnett* (40) und *Naito* (41) u. a. genauer studiert. Die Ursache derselben ist noch nicht sichergestellt; *Fischer* und *Brown* (42) fanden, daß die NaCl-Glykosurie durch Ca-Gabe unterdrückt werden kann. Alles das aber können lokale Wirkungen auf das Nierenfilter sein, und Veränderungen im intermediären Stoffwechsel brauchen nicht zugrunde zu liegen. *Underhill* und *Closson* (42) fanden jedenfalls, daß bei der Kochsalzglykosurie keine Hyperglykämie besteht, sondern eher eine Hypoglykämie. Gleiches fand *Bang*. Nur *Wilenko* (43) sah nach der Injektion von 20proz. NaCl-Lösungen eine deutliche Hyperglykämie. *Schenk* dagegen sah beim Menschen nach der intravenösen Injektion von 100 bis 130 ccm 10proz. NaCl-Lösung keine Hyperglykämie, sondern eine Hypoglykämie, die er aus einer Verdünnung des Blutes durch das Einströmen des Gewebewassers erklärt.

Die Magnesiumwirkung untersuchte *Bürnett*, der eine Glykosurie dabei feststellte. Über die Blutzuckerwirkung von Magnesium berichtete *Karger* (43) und fand Hyperglykämie. Nur *Zondek* und *Ucko* (45) sahen, daß bei gleichzeitiger Gabe von Magnesium und Insulin in der zweiten, blutzuckersteigernden Phase der Insulinwirkung die Blutzuckersteigerung ebenso verstärkt wird wie bei der Gabe von Calcium + Insulin. Obwohl bisher nur vereinzelt die blutzuckersteigernde Wirkung bei der alleinigen Magnesiumgabe beobachtet worden ist, kann man doch aus diesen Versuchen schon schließen, daß Magnesium blutzuckersteigernd wirkt.

Es fragt sich nun, warum die verschiedenen Autoren bei ihren Kali- und Calciumversuchen keine übereinstimmenden Resultate erhalten haben. *Zondek* und *Benatt* meinen, daß die Ursache in dem Regulationsmechanismus des Körpers für die Ionenbewegung und Ionenverankerung liegen müsse. Denn wenn diese Autoren die Salze direkt in die Pfortader injizierten und das Lebervenenblut untersuchten, so waren die Wirkungen sehr eklatant.

Ganz anders wie die Versuchsanordnung der bisher erwähnten Autoren war diejenige von *Händel* (46), der im hiesigen Laboratorium arbeitete. Er untersuchte das Verhalten des Blutzuckerspiegels und des Leberglykogens bei Ratten, die chronisch mit Zellsalzen unterernährt waren, oder bei solchen salzarm ernährten Tieren, die besondere

Zulage einzelner Salze erhalten hatten. Dabei fand er, daß die salzarm ernährten Tiere eine Hyperglykämie bei Senkung des Leberglykogens bekamen, während die Tiere mit besonderer $CaCl_2$-Zulage eine noch etwas stärkere Hyperglykämie zeigten bei einem Leberglykogenwert, den die salzarm ernährten Tiere hatten. Kalizulage hatte bei den sonst salzarm ernährten Tieren keine Wirkung. Jedenfalls geht aus den *Händel*schen Versuchen so viel hervor, daß ein Überwiegen von Ca-Ionen im Körper zu einer Hyperglykämie mit Senkung der Leberglykogenwerte führt.

Alles in allem ersieht man aber aus den mitgeteilten Literaturangaben, daß, abgesehen von der Beeinflussung des Blutzuckers, die Ionen auf den intermediären Kohlenhydratstoffwechsel einen wesentlichen Einfluß haben, wie sich aus den Beobachtungen am Leberglykogen und über die Glykosurie ergibt, daß aber über die Beeinflussung des Blutzuckers durch die Ionen die Ansichten noch vielfach divergieren.

Aus diesem Grunde habe ich zunächst noch einmal eine Reihe von Versuchen an normalen Kaninchen gemacht, um über den Einfluß intravenöser Injektionen von $CaCl_2$, KCl, NaCl und $MgCl_2$ in verschiedenen Dosierungen auf den Blutzucker Klarheit zu gewinnen.

An neun Kaninchen studierte ich, und zwar an jedem Tiere zu verschiedenen Zeiten die Kali- und Calciumwirkung. An fünf Kaninchen machte ich die entsprechenden Versuche mit Kochsalz und Magnesiumchlorid.

In den Tabellen XVIII und XIX sind die Versuche zusammengestellt, aus denen hervorgeht, daß bei nüchternen Kaninchen und Blutzuckerbestimmungen von 30 zu 30 Minuten oder in Zeiträumen von 5, 10, 15, 30 und 60 Minuten nach der ersten Blutentnahme der Blutzucker bei meinem früher beschriebenen Vorgehen bei diesen Versuchen sich nicht ändert. Die Schwankungen liegen innerhalb von 0,01 Proz.

In den Tabellen XX bis XXII sind die Versuche am nüchternen Kaninchen mit intravenösen $CaCl_2$-Injektionen zusammengestellt, und zwar bei folgenden Dosierungen: 0,2 bis 0,1 bis 0,04 g $CaCl_2$, gegeben in 5proz. wässeriger Lösung pro Kilo Körpergewicht. Die Versuche zeigen, daß nur bei der Dosis von 0,2 und 0,1 g $CaCl_2$ eine Hyperglykämie zustandekommt. Bei 0,04 g $CaCl_2$ bleibt der Blutzucker unverändert.

In den Tabellen XXIII und XXIV sind die Versuche am nüchternen Kaninchen mit 0,025 und 0,04 g intravenöser KCl-Gabe pro Kilo Körpergewicht in 1proz. Lösung zusammengestellt. Eine Wirkung auf den Blutzucker war nicht nachweisbar.

Auf Grund meiner Versuche an sechs nüchternen Kaninchen ohne Salzinjektionen (Tabellen XVIII und XIX) nehme ich nur dann eine

Blutzuckerveränderung an, wenn die Werte um mindestens 0,15 Proz. von den Ausgangswerten differieren.

In den Tabellen XXV und XXVI sind die Kochsalzversuche verzeichnet. In 10proz. NaCl-Lösung wurden entweder 0,5 oder 0,2 g NaCl pro Kilo Körpergewicht injiziert. Nur die Gabe von 0,5 g NaCl pro Kilo Körpergewicht führte zur Hyperglykämie; bei 0,2 g trat keine Veränderung auf.

In der Tabelle XXVII sind die Magnesiumversuche enthalten. Bei der intravenösen Injektion von 0,04 g $MgCl_2$ pro Kilo Körpergewicht in 1proz. Lösung trat keine Veränderung im Blutzucker auf.

In der Abb. 1 sind die Durchschnittswerte von jeder Versuchsgruppe eingezeichnet. Hier zeigt sich, daß die Chlorcalciumhyperglykämie protrahierter verläuft und einen höheren Anstieg aufweist als die Kochsalzhyperglykämie. Beim Calcium wird erst 15 Minuten nach der Injektion der Gipfel der Kurve erreicht, bei Kochsalz schon nach 5 Minuten. Die von *Kylin* und *Nyström* (39) beobachtete initiale Blutzuckersenkung nach der Calciuminjektion habe ich nicht gesehen.

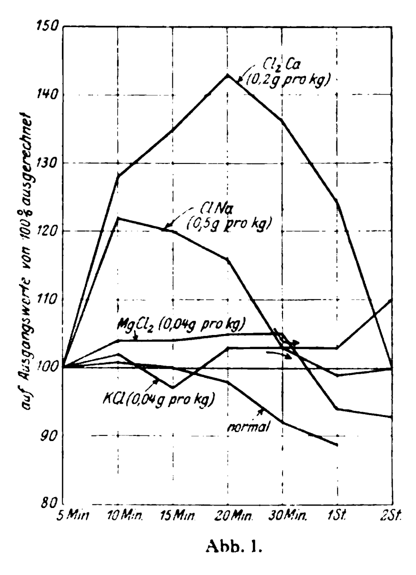


Abb. 1.

Ergebnis.

Intravenöse $CaCl_2$- und NaCl-Injektionen in bestimmter Dosierung bewirken beim normalen, nüchternen Kaninchen eine Hyperglykämie. KCl und $MgCl_2$-Injektionen lassen in den angegebenen Dosen den Blutzucker unbeeinflußt.

B. Elektrolytenwirkung auf die alimentäre Hyperglykämie.

Nachdem ich nun beim normalen, nüchternen Kaninchen den Einfluß von Ca, Na, K und Mg auf den Blutzucker studiert hatte, habe ich mir die Frage vorgelegt, wie diese Ionen auf den pathologisch erhöhten Blutzucker wirken. Eine solche Blutzuckererhöhung liegt beim menschlichen Diabetes vor; experimentell kann sie unter anderem hervorgerufen werden durch eine alimentäre Hyperglykämie, denn der negative Ausfall meiner K- und Mg-Versuche konnte dadurch bedingt sein, daß eine Wirkung dieser Ionen in der an-

gewandten Konzentration nur nicht beim normalen Hungertier zur Anschauung käme, wohl aber bei erhöhtem Blutzuckergehalt nachweisbar sei.

Über die Beeinflussung der Glykosurie und des Blutzuckers durch Ionen beim Diabetes hat *Lorant* (47) gearbeitet. Wenn er Na-, K-, Ca-Salze in Form von Chloriden, Sulfaten, Phosphaten, Carbonaten oder Jodiden gab, bekam er keine einheitlichen Versuchsergebnisse bei den verschiedenen Versuchen mit einem Salz, sondern fand die Wirkung in hohem Grade abhängig von der Dosierung. Dabei gingen die Zuckerwerte keineswegs mit der Größe der Zuckerausscheidung durch den Harn parallel, aber es wurde jedenfalls bei Verringerung der Glykosurie niemals eine Steigerung des Blutzuckers beobachtet. Ein deutlicher Einfluß der Salze besteht aber jedenfalls auf den ganzen Zuckerstoffwechsel beim Diabetiker. Auch *Arnoldi* und *Ettinger* (48) konnten beim Diabetes einen, wenn auch nicht immer gleichsinnigen Einfluß der Ionen nach der peroralen Zufuhr in 2proz. Salzlösungen auf den Blutzucker feststellen. *Semler* (49) fand beim Diabetes, daß intravenöse K-Zufuhr den Blutzuckerspiegel senkt, Ca-Zufuhr ihn oft leicht erhöht, während Na-Zufuhr sich indifferent darauf erweist.

Zunächst bespreche ich meine Versuche über die Ionenwirkung auf den durch intravenöse Traubenzuckerinjektionen beim Kaninchen künstlich erhöhten Blutzuckerspiegel.

Meine Versuche zerfallen in zwei Gruppen. In der ersten Gruppe injizierte ich gleichzeitig mit dem Zucker die betreffende Ionenlösung; in der zweiten Gruppe injizierte ich zuerst die Salzlösung und genau 10 Minuten später die Zuckerlösung. Alle Versuche, bei denen nicht dieses Zeitintervall ganz genau eingehalten werden konnte, habe ich aus meiner Arbeit ausgeschaltet. Die Blutzuckerbestimmungen innerhalb eines Versuchs machte ich in folgenden Intervallen. Vor der Injektion untersuchte ich den Blutzucker beim nüchternen Kaninchen zweimal in einem Zwischenraum von 5 Minuten; wenn hier die Differenz 0,005 Proz. oder darunter betrug, habe ich den Mittelwert als Nüchternwert für den Blutzucker genommen. Bei größeren Differenzen habe ich den Versuch überhaupt ausgeschaltet. Sofort nach der zweiten Blutzuckerentnahme für die Bestimmung des Nüchternwertes des Blutzuckers habe ich die Salzlösung oder die Salz-Zuckerlösung injiziert. Wenn die Zuckerlösung getrennt von der Salzlösung injiziert wurde, habe ich 10 Minuten nach der Salzinjektion die Zuckerlösung injiziert. In diesem Falle habe ich dann aber noch eine Blutzuckerbestimmung gemacht 5 Minuten nach der Salzinjektion.

Die bei den Versuchen mit gleichzeitiger Injektion des Zuckers mit dem Salz angewandten Lösungen waren folgende:

Ia.		Ib.	
$CaCl_2$	1,0	$CaCl_2$	1,22
Glucose	10,0	Glucose	5,42
Aqua dest. zu	100,0	Aqua dest. zu . . .	100,00
		(Isotonische Lösung)	

IIa.		IIb.	
KCl	1,0	KCl	1,16
Glucose	10,0	Glucose	5,42
Aqua dest. zu	100,0	Aqua dest. zu . . .	100,00
		(Isotonische Lösung)	

III.		IV.	
$MgCl_2$	1,0	NaCl	0,9
Glucose	5,42	Glucose	5,42
Aqua dest. zu	100,00	Aqua dest. zu . . .	100,00
(Isotonische Lösung)		(Isotonische Lösung)	

Ich habe bei den Ca- und K-Versuchen mit einer in bezug auf Ca und K hypotonischen und isotonischen Lösung, berechnet nach dem Gefrierpunkt, gearbeitet, um zu sehen, ob die molekulare Konzentration der Ionenlösung als solche einen Einfluß auf den Ablauf der Erscheinungen hat. Ein Unterschied war, wie ich hier schon vorausnehmen will, nicht zu erkennen.

Bei den Lösungen Ia und IIa gab ich 0,4 g Traubenzucker pro Kilo Körpergewicht. In diesem Falle bekam das Kaninchen pro Kilo 0,04 $CaCl_2$ oder KCl.

Bei den Lösungen Ib, IIb, III und IV bekam das Tier pro Kilo 0,3 g Glucose und 0,068 g $CaCl_2$, 0,064 g KCl, 0,055 g $MgCl_2$ und 0,05 g NaCl pro Kilo.

Die bei den Versuchen, bei denen die Zuckerlösung zeitlich nach der Salzlösung injiziert wurde, verwandten Lösungen waren folgende:

Va.		Vb.	
$CaCl_2$	1,0	$CaCl_2$	1,22
Aqua dest. zu	100,0	Aqua dest. zu . . .	100,0
(Hypotonische Lösung)		(Isotonische Lösung)	

VIa.		VIb.	
KCl	1,0	KCl	1,16
Aqua dest. zu	100,0	Aqua dest. zu . . .	100,0
(Hypotonische Lösung)		(Isotonische Lösung)	

VII.		VIII.	
$MgCl_2$	1,0	NaCl.	0,9
Aqua dest. zu	100,0	Aqua dest. zu . . .	100,0
(Isotonische Lösung)		(Isotonische Lösung)	

Die genaue Dosierung findet sich in den einzelnen Tabellen.

Die bei dieser Versuchsgruppe benutzte Traubenzuckerlösung war isotonisch.

IX.	
Glucose	5,42
Aqua dest. zu	100,0

Zunächst habe ich die Blutzuckerkurve nach alleiniger intravenöser Injektion von 0,3 oder 0,4 g Traubenzucker pro Kilo nüchternes Kaninchen aufgenommen. Bei 0,3 g pro Kilo verwandte ich die isotonische Traubenzuckerlösung, bei 0,4 g pro Kilo die 10proz. Traubenzuckerlösung.

Bei allen Versuchen habe ich die Blutzuckerwerte umgerechnet auf einen Ausgangswert beim nüchternen oder salzinjizierten Kaninchen von 0,1 Proz., um Vergleichswerte zu erhalten.

Die Tabelle XXVIII enthält die Beobachtungen an sechs Kaninchen bei der Injektion von 0,4 g Traubenzucker pro Kilo. In allen Fällen war die Erhöhung des Blutzuckers 5 Minuten nach der Injektion ungefähr die gleiche. Dieselben Kaninchen dienten zu den Versuchen, die in den Tabellen XXIX, XXX, XXXI und XXXII zusammengestellt sind.

Die Tabelle XXXIII enthält die Beobachtungen an sieben anderen Kaninchen bei Injektion von 0,3 g Traubenzucker pro Kilo. In allen Fällen war die Erhöhung 5 Minuten nach der Injektion ungefähr gleich, nur bei Kaninchen 6 ein wenig höher und beim Kaninchen 7 ein wenig geringer als bei den anderen Kaninchen. Dieselben Kaninchen dienten zu den Versuchen, die in den Tabellen XXXIV und XL zusammengestellt sind.

Bei den Kaninchen mit der Injektion von 0,4 g Glucose pro Kilo habe ich nur Ca- und K-Versuche gemacht.

Bei der *gleichzeitigen* Injektion von Glucose und $CaCl_2$ fand ich, wie aus dem Versuch der Tabelle XXIX und der Tabelle XXVIII hervorgeht, daß die alimentäre hyperglykämische Kurve erniedrigt ist, während, wie aus dem Versuch der Tabelle XXX und XXVIII hervorgeht, die Injektion von KCl zusammen mit der Glucose die glykämische Kurve erhöht. In der Abb. 2 ist das Ergebnis aller dieser Versuche an Durchschnittswerten graphisch dargestellt. Es handelt sich, wie gesagt, bei allen diesen Versuchen um dieselben Kaninchen. Wieweit die einzelnen dieser Kaninchen zu den verschiedenen Versuchen verwandt wurden, geht aus den Tabellen hervor.

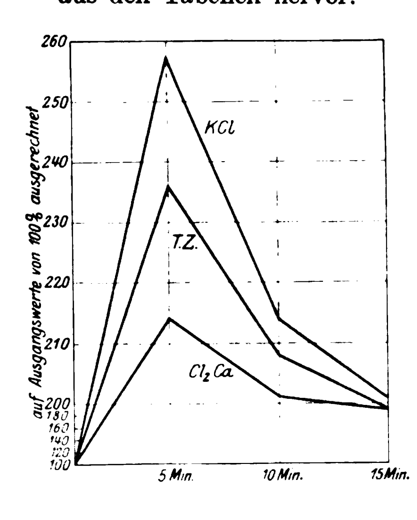


Abb. 2.
Proz. mit 1000 multipliziert.

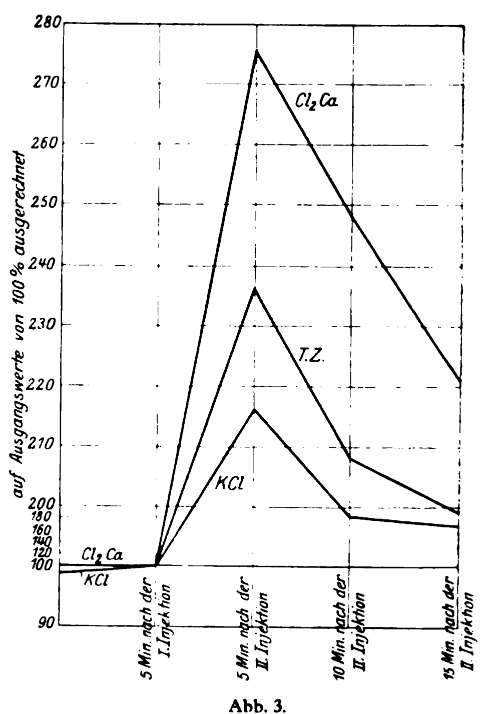


Abb. 3.
I. Injektion = Salzinjektion.
II. Injektion = T.-Z. = (Traubenzuckerinjektion).
T.-Z.-Injektion 10 Min. nach der Salzinjektion.
Proz. mit 1000 multipliziert.

In der Tabelle XXXI und XXXII sind die Versuche an den nämlichen drei Kaninchen zusammengestellt, bei denen Salz- und Traubenzuckerlösung hintereinander gegeben wurden. Die Ergebnisse sind in der Abb. 3 graphisch dargestellt. Bei dieser Versuchsanordnung wird durch das $CaCl_2$ die hyperglykämische Kurve gewaltig erhöht und durch KCl erniedrigt.

Das Resultat ist also genau das umgekehrte wie in dem Falle, daß Salz und Traubenzucker gleichzeitig verabreicht wurden.

Mit anderen Worten: Auf den nüchternen Blutzuckerwert wirkt Calcium steigernd, aber es wirkt auch steigernd, wenn es dem nüchternen Tiere verabfolgt wird, und das nüchterne Tier 10 Minuten später Glucose intravenös erhält. Calcium wirkt aber herabsetzend, wenn es gleichzeitig mit der Glucose injiziert wird.

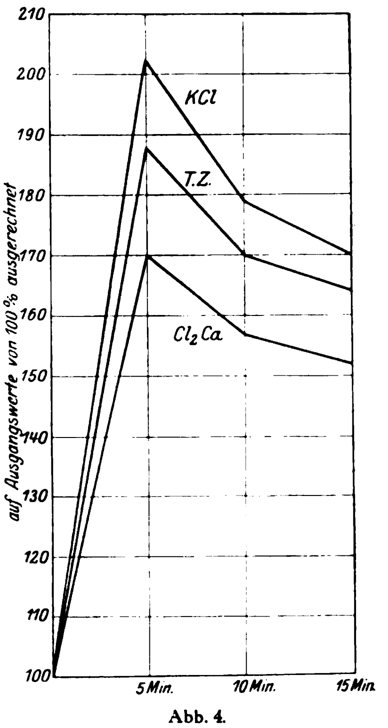


Abb. 4.
Proz. mit 1000 multipliziert.

Kalium hat auf den nüchternen Blutzuckerwert überhaupt keinen Einfluß in den angewandten Dosen. Es steigert aber den Blutzuckerwert bei gleichzeitiger Glucoseinjektion, es setzt ihn aber herab bei nachträglicher Glucoseinjektion.

Bei den Kaninchen mit der Injektion von 0,3 g Glucose pro Kilo habe ich Ca-, K-, Na- und Mg-Versuche gemacht.

Bei gleichzeitiger Injektion der Glucose- und Salzlösung fand ich folgendes. Aus den Tabellen XXXIV und XXXV und ihrem Vergleich mit der Tabelle XXXIII geht hervor, daß bei den Calciumversuchen die glykämische Wirkung gesenkt, bei den Kaliumversuchen aber erhöht ist (siehe Abb. 4).

Aus den Tabellen XXXVI und XXXVII und ihrem Vergleich mit der Tabelle XXXIII geht hervor, daß durch NaCl die glykämische Wirkung erhöht wird, und daß durch $MgCl_2$ die glykämische Kurve ebenfalls erhöht wird, aber nicht ganz so stark wie durch NaCl.

Eine graphische Darstellung der Ergebnisse findet sich in der Abb. 5.

Die Versuche an den Kaninchen mit der Injektion von 0,3 g Glucose pro Kilo und der Injektion der Glucose zeitlich nach der Injektion des Salzes hatten folgendes Resultat. Hier habe ich nur NaCl und $MgCl_2$ untersucht. Aus der Tabelle XXXVIII und ihrem Vergleich mit der Tabelle XXXIII geht hervor, daß die $MgCl_2$-Injektion bei nachträglicher Glucoseinjektion den Blutzuckerspiegel ein wenig senkt. Eine stärkere Senkung tritt bei NaCl auf, wie aus den Tabellen XXXIX und XL und ihrem Vergleich mit der Tabelle XXXIII hervorgeht.

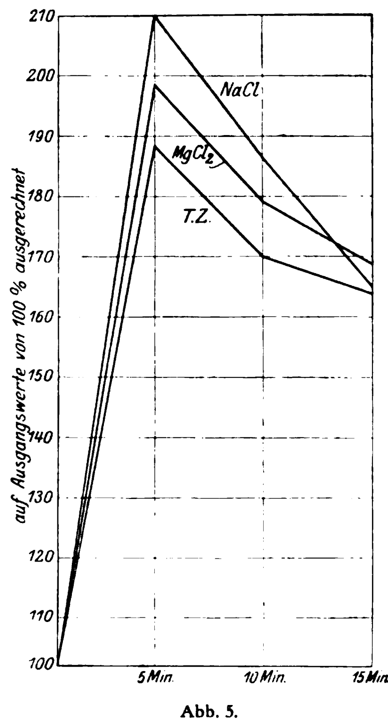


Abb. 5.
Proz. mit 1000 multipliziert.

Aus allem ergibt sich: $CaCl_2$ macht eine Blutzuckererhöhung beim einfachen nüchternen Tiere und beim nüchternen Tiere mit nachfolgender Zuckerinjektion nach der Salzinjektion. $CaCl_2$ senkt den Blutzucker beim nüchternen Tiere bei gleichzeitiger Gabe mit Zucker.

Da $CaCl_2$ auch beim hungernden, glykogenarmen Tiere eine Blutzuckererhöhung macht, ist diese unabhängig vom Leberglykogen. Da $CaCl_2$ die hyperglykämische Kurve bei nachfolgender Zuckerinjektion beim nüchternen Tiere ebenfalls steigert, müssen hier dieselben Wirkungen obwalten, wie beim einfach nüchternen Tiere. Warum senkt nun $CaCl_2$ die hyperglykämische Kurve bei gleichzeitiger Gabe mit Zucker beim nüchternen Tiere? Ich sehe vorläufig keine andere Erklärungsmöglichkeit, als nervöse Einflüsse hier anzunehmen, die durch das Calcium am vegetativen Nervensystem ausgelöst werden, und die mit peripherischen Einflüssen des Calciums auf das Gewebe (Zellmembran usw.) konkurrieren.

KCl, NaCl und $MgCl_2$ haben beim einfach nüchternen Tiere einen blutzuckersteigernden oder gar keinen Effekt, beim nüchternen Tiere mit gleichzeitiger Zuckerinjektion einen steigernden, beim nüchternen Tiere zeitlich nach der Zuckergabe aber einen herabsetzenden Einfluß auf die Kurve.

Die senkende Wirkung des Kochsalzes wächst mit gesteigerter Dosierung. Die graphische Darstellung dieser Ergebnisse findet sich in der Abb. 6.

Aus allem ergibt sich, daß $MgCl_2$ und NaCl bei gleichzeitiger Injektion mit der Glucose die glykämische Kurve steigern, bei vorzeitiger Injektion aber die Kurve senken; besonders ist das bei NaCl deutlich.

Die Tatsachen, die sich aus allen Versuchen dieses ganzen Abschnitts ergeben, sind folgende:

Beim nüchternen Tiere ohne Zuckergabe bewirkt $CaCl_2$ und NaCl eine Steigerung des Blutzuckers, die nach der $CaCl_2$-Gabe nach 15 Minuten, nach der NaCl-Gabe aber schon nach 5 Minuten ihr Maximum erreicht. Nach der Gabe von KCl und $MgCl_2$ war keine Wirkung beim nüchternen Tiere zu sehen.

Bei gleichzeitiger Gabe von Zucker und $CaCl_2$ tritt eine Senkung der hyperglykämischen Kurve ein, nach der gleichzeitigen Gabe von Zucker und NaCl oder KCl oder $MgCl_2$ tritt eine Steigerung der hyperglykämischen Kurve ein (Versuchstier nüchtern).

Bei der Gabe der Salzlösungen zeitlich vor der Gabe der Zuckerlösung tritt nach $CaCl_2$ eine Steigerung, nach NaCl, KCl und $MgCl_2$ eine Senkung der hyperglykämischen Kurve ein (Versuchstiere nüchtern).

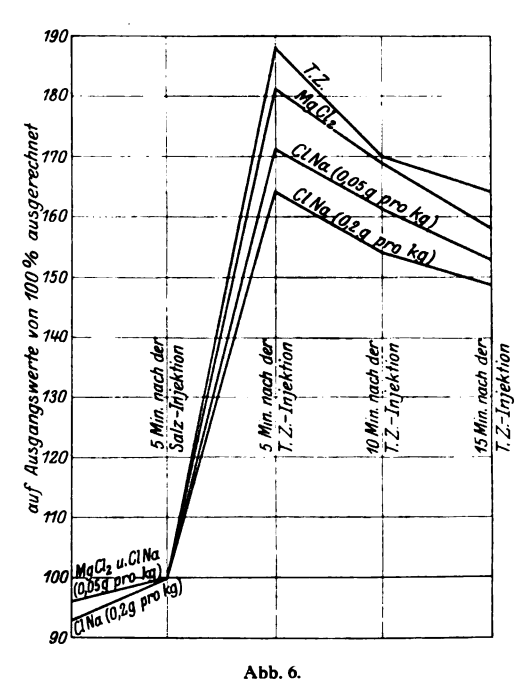


Abb. 6.
T.Z. = Traubenzuckerinjektion (10 Minuten nach der Salzinjektion).
Proz. mit 1000 multipliziert.

Die Umkehr der Ca-Wirkung tritt also ein bei der *gleichzeitigen* Zuckergabe, die Umkehr der Na-, K- und Mg-Wirkung tritt aber ein bei der nachzeitigen Zuckergabe und vorzeitiger Ioneninjektion. Diese Feststellung aber bedeutet eine neue Erschwerung der theoretischen Erklärung.

Ich will nun versuchen, am Beispiel der Ca-Wirkung unter den verschiedenen von mir gewählten Versuchsbedingungen zu zeigen, wie man sich den Mechanismus der Wirkung erklären kann.

Barath (35) hat schon darauf hingewiesen, daß die initiale Ca-Wirkung eine parasympathische Reizwirkung, und die sekundäre Ca-Wirkung eine sympathische Reizwirkung ist, und daß sich K umgekehrt verhält. So sah *Kylin* (39) auch nach der Ca-Injektion eine initiale Blutzuckersenkung beim gesunden Menschen, der die Blutzuckersteigerung nachfolgte. Ich habe zwar bei den Kaninchen die primäre blutzuckersenkende Ca-Wirkung nicht gesehen, aber bei diesem Tiere können ja kompensatorische Vorgänge intervenieren, die diese initiale Ca-Wirkung nicht recht zur Anschauung kommen lassen.

Wenn wir nun annehmen, daß Ca initial den Parasympathicus reizt, dann könnte damit eine gesteigerte Resorptionsfähigkeit des Gewebes für Zucker einhergehen und die Blutzuckerkurve absinken. Dieses initiale Absinken des Blutzuckergehalts brauchte aber nur dann aufzutreten, wenn genügend Blutzucker da ist. Es könnte also ausbleiben beim nüchternen Tiere. Wenn man Zucker und Calcium gleichzeitig beim nüchternen Tiere injiziert, könnte die Wirkung als Folge der primären parasympathischen Wirkung eintreten. Wenn man das Calcium vor dem Zucker beim nüchternen Tiere injiziert, dann würde die initiale parasympathische Wirkung schon längst abgeklungen sein, wenn der Traubenzucker nachträglich injiziert wird, und es würde sich die hyperglykämische (sympathische) Wirkung des Ca mit der alimentären Steigerung des Blutzuckers einfach kombinieren und die Erhöhung der Blutzuckerkurve daraus resultieren.

Beim Kalium würde die Sache umgekehrt sein. Das Kalium würde bei einem initialen sympathischen Effekt den Blutzucker beim nüchternen Tiere steigern. Diese Blutzuckersteigerung habe ich bei meinem Kaninchen vielleicht deshalb nicht gesehen, weil die hierzu nötige K-Dosis zu nahe an der letalen Dosis liegt. Wenn man nun K und Zucker gleichzeitig injiziert, dann würde die primäre blutzuckersteigernde sympathische K-Wirkung mit der alimentären Zuckersteigerung zusammenfallen und die Zuckerkurve würde erhöht. Wenn man aber das K vor der Zuckergabe injiziert, dann würde die sekundäre parasympathische Wirkung zur Geltung kommen und die alimentäre Blutzuckerkurve herabdrücken müssen.

Beim Natrium, bei dem man auch beim nüchternen Kaninchen schon den primären sympathischen Effekt sieht, und beim Magnesium würden die Verhältnisse so wie beim Kalium liegen. Beim Magnesium sind alle Wirkungen nur schwach.

Ob es sich nun bei allen diesen Wirkungen der Ionen um Beeinflussungen des vegetativen Nervensystems oder um die diesen Nervenwirkungen entsprechenden Änderungen in den Erfolgsorganen, also in den Gewebszellen handelt, soll hier nicht im einzelnen untersucht werden.

C. Einfluß des Ca auf den Blutzuckerspiegel bei nebennierenlosen Kaninchen.

Da die Adrenalinwirkung in vieler Hinsicht gleichsinnig mit der Ca-Wirkung verläuft und funktionelle Beziehungen zwischen dem Adrenalin und dem Ca wohl anzunehmen sind, habe ich untersucht, wie die Ca-Wirkung abläuft am Blutzuckerspiegel beim nebennierenlosen Kaninchen. *Mc Guigan* (50) hat gefunden, daß die Kochsalzhyperglykämie nach der Nebennierenexstirpation beim Kaninchen ausbleibt, nicht aber bei Hunden und Katzen. *Leites* (51) sah, daß Ca-Mangel die gefäßverengernde Wirkung des Adrenalins schwächt, Ca-Überschuß in der Nährflüssigkeit sie aber steigert. *Kylin* (39) hat in Versuchen am gesunden Menschen gesehen, daß die erstphasische, blutdrucksteigernde Adrenalinwirkung durch intravenöse $CaCl_2$-Injektion verstärkt wird, während die zweitphasische, blutdrucksenkende Adrenalinwirkung durch intravenöse KCl-Injektionen gesteigert wird. *Billigheimer* (52) und *Dresel* (53) haben gefunden, daß unter der Adrenalinwirkung sich der Ca-Gehalt, und unter der Cholinwirkung sich der K-Gehalt des Blutes vermindert, dagegen hat *Vollmer* (54) bei seinen Cholin- und Pilocarpininjektionen kein niedriges Resultat betreffs des Ca- und K-Gehalts im Blute erhalten. *R. Kaewel* (55) kommt zu dem Schluß, daß die Adrenalinwirkung in einiger Beziehung zu dem Ca-Gehalt der Körpersäfte steht, und daß in Ca-freier Nährlösung Adrenalin unwirksam ist, Ca-arme Lösung die Adrenalinwirkung steigert und Ca-reiche Lösung die Adrenalinwirkung ausgedehnt zu hemmen befähigt ist. *B. Kisch* (56) hat an einseitig nebennierenlosen Kaninchen den Ca-Gehalt im Blute bestimmt und festgestellt, daß der Ca-Gehalt im Blute nach der Entfernung der Nebenniere absinkt, dann aber allmählich viel höher als vor der Operation ansteigt. Auch bei beiderseitig nebennierenlosen Kaninchen sinkt der Ca-Gehalt des Blutes zunächst und steigt dann allmählich über die Norm an.

Von diesen Beobachtungen ausgehend, habe ich bei einseitig und doppelseitig nebennierenlosen Kaninchen den Einfluß der intravenösen Ca-Injektion auf den Blutzuckerspiegel untersucht.

Bei einseitig nebennierenlosen Kaninchen habe ich gefunden, daß innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Operation, in denen der Blutzucker nach vorübergehendem Anstieg wieder normal wird, die intravenöse Ca-Injektion den Blutzuckerspiegel senkt (Tabelle XLII). Etwa 7 Tage nach der Operation bewirkt die Ca-Injektion keine Veränderung am Blutzuckerspiegel (Tabelle XLIII), aber etwa 10 Tage nach der Operation ruft die intravenöse Ca-Injektion eine sehr erhebliche Steigerung des Blutzuckers hervor (Tabelle XLIV). Die Versuche an ein und demselben Tiere zu verschiedenen Zeiten wurden immer mit der gleichen Ca-Dosis gemacht.

Kaninchen, bei denen ich im übrigen dieselbe Operation gemacht, nur die Nebenniere unberührt gelassen hatte, verhielten sich den Ca-Injektionen innerhalb von 24 Stunden nach der Operation gegenüber ungefähr wie normale Kaninchen (Tabelle XLI).

Wenn den Kaninchen entweder beide Nebennieren gleichzeitig oder die zweite Nebenniere 20 Tage nach der Exstirpation der ersten Nebenniere entfernt wurde, dann war der Blutzuckerspiegel entweder

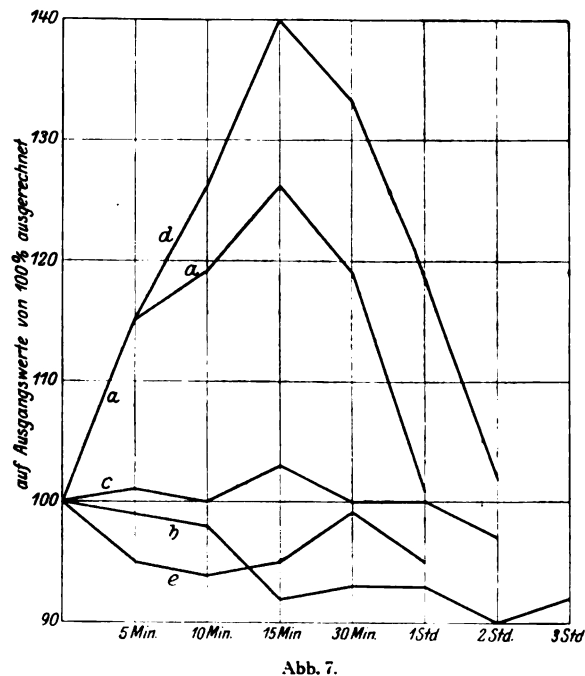


Abb. 7.

a) Kurve für scheinbar operierte Kaninchen.
b) Kurve für links nebennierenloses Kaninchen (innerhalb 24 Stunden nach der Operation).
c) Kurve für links nebennierenloses Kaninchen (nach etwa 1 Woche nach der Operation).
d) Kurve für links nebennierenloses Kaninchen (nach 10 Tagen nach der Operation).
e) Kurve für links und rechts nebennierenloses Kaninchen (innerhalb 24 Stunden nach der Operation).

leicht gesenkt oder normal, und es machte die Ca-Injektion innerhalb der ersten 24 Stunden des nebennierenlosen Zustandes keine Änderung oder nur eine geringe Senkung des Blutzuckerspiegels (Tabelle XLV).

Aus allen diesen Versuchen, die in der Abb. 7 zusammengestellt sind, ergibt sich, daß die Adrenalinverarmung des Körpers die blutzuckersteigernde Ca-Wirkung vermindert. Mit dem Eintritt der Kompensation nach einseitiger Nebennierenexstirpation durch die

andere Nebenniere stellt sich die Ca-Wirkung wieder ein. Wenn also Ca blutzuckersteigernd wirken soll, muß im Blute eine gewisse Menge Adrenalin vorhanden sein, um den normalen Sympathicustonus zu garantieren. Daß das Ca primär durch Sympathicuswirkung eine Adrenalinausschüttung aus der Nebenniere hervorruft, braucht aus den Versuchen nicht gefolgert zu werden.

Versuchstechnik.

Die Nebennierenexstirpation wurde mit Hilfe der Laparatomie gemacht, entweder in der Medianlinie oder in der Mamillarlinie. Narkose wurde wegen der den Blutzucker alterierenden Wirkung der Narkotica vermieden. Ich habe im ganzen 24 Kaninchen operiert; zwölf von diesen Tieren wurden zu den Versuchen verwandt. Die einseitig nebennierenlosen Kaninchen sterben gewöhnlich entweder innerhalb der ersten 10 Tage oder innerhalb 24 Stunden nach der Operation. So konnte ich nur an wenigen von allen diesen operierten Kaninchen meine Versuche machen. Aus diesem Grunde habe ich auch nur wenig Tiere gehabt, denen ich nach Ablauf der ersten 10 Tage noch die zweite Nebenniere entfernen konnte.

Verhalten des Blutzuckers beim einseitig nebennierenlosen Kaninchen.

Nach der einseitigen Nebennierenexstirpation zeigte der Blutzucker folgende Werte.

	Vor der Operation Proz.	Nach 1 Stunde Proz.	Nach 2 Stunden Proz.	Nach 3 Stunden Proz.	Nach 4 Stunden Proz.	Nach 5 Stunden Proz.
Tier 1	0,153	0,247	0,308	0,353	0,258	0,160
Tier 2 . . .	0,121	0,164	—	—	0,121	0,110

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß nach der einseitigen Nebennierenexstirpation 5 Stunden nach der Operation der Blutzucker nach einer vorübergehenden Steigerung wieder normal wird. Aus Tabelle XLII ergibt sich, daß 24 Stunden nach der Operation der Blutzucker auch in der Regel normal ist.

Ich habe also alle meine Ca-Versuche, die ich mindestens 24 Stunden nach der einseitigen Nebennierenexstirpation machte, bei normalem Blutzuckerspiegel der Tiere gemacht.

Tabelle XVIII.

Zeitliche Schwankung beim normalen Tiere (Kaninchen) je 30 Minuten.

Tier 1	2400 g	0,099	0,103	0,102	0,105
„ 2	2500 g	0,099	0,105	0,103	0,105
„ 3	2010 g	0,110	0,113	0,105	0,110
	Durchschnitt	0,103	0,107	0,103	0,107

Tabelle XIX.

Kaninchen Nr.	Körpergew. kg		5 Min.	10 Min.	15 Min	30 Min.	1 Stunde
1	2,430	0,101	0,107	0,106	0,107	0,106	0,099
4	1,600	0,143	0,142	0,143	0,140	—	—
5	1,600	0,096	0,100	0,095	0,096	0,104	0,102
6	2,070	0,095	0,093	0,089	0,087	0,092	0,092
Durchschnitt		0,109	0,110	0,108	0,107	0,100	0,097

Tabelle XX.

Intravenöse Injektion von 5,0proz. Cl_2Ca-Lösung (0,2 g pro Kilogramm).

Datum 1924	Kaninchen Nr.	Körpergew. kg	Vor der Injektion	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	3 Std.
				nach der Injektion						
20. X.	1	3,100	0,105	0,123	0,124	0,142	0,127	—	—	—
22. X.	2	2,000	0,098	0,116	0,133	0,136	0,124	0,105	0,096	—
24. X.	3	3,250	0,114	0,117	0,128	—	0,156	0,153	—	—
1925 16. I.	4	1,580	0,120	0,181	0,183	0,174	0,165	0,137	0,115	—
	Durchschnitt		0,105	0,134	0,142	0,150	0,143	0,130	0,105	—

Tabelle XXI.

Intravenöse Injektion von 5,0proz. Cl_2Ca-Lösung (0,04 g pro Kilogramm).

Datum	Nr.	Körpergew. kg	Vor der Injektion	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	3 Std.
3. XI.	5	2,630	0,100	0,101	0,101	0,098	0,108	0,102	0,100	—
5. XI.	6	2,210	0,096	0,090	0,104	0,095	0,100	0,093	0,096	—
5. XI.	5	2,420	0,090	0,100	0,090	0,097	0,103	0,091	—	—
	Durchschnitt		0,095	0,097	0,098	0,097	0,103	0,095	0,098	—

Tabelle XXII.

Intravenöse Injektion von 5,0proz. $CaCl_2$-Lösung (0,1 g pro Kilogramm).

Datum	Nr.	Körpergew. kg	Vor der Injektion	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	3 Std.
1925 9. II.	7	1,850	0,085	0,095	0,096	0,119	0,113	0,110	0,100	—
9. II.	8	1,650	0,128	0,140	0,139	0,136	0,153	0,153	0,093	—
13. II.	9	2,010	0,087	0,098	0,142	0,108	0,109	0,115	0,108	0,09
11. II.	8	1,810	0,104	0,115	0,122	0,121	0,120	0,116	0,107	—
1924 3. XI.	4	2,620	0,097	0,103	0,119	—	0,131	0,128	0,108	—
	Durchschnitt		0,100	0,110	0,123	0,121	0,125	0,124	0,103	0,09

Tabelle XXIII.

Intravenöse Injektion von 1,0proz. KCl-Lösung (0,025 g pro Kilogramm).

Datum 1924	Kaninchen Nr.	Körpergew. kg	Vor der Injektion	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.
				nach der Injektion					
6. X.	1	2,100	0,080	0,081	0,090	0,081	—	—	—
8 X.	2	2,100	0,088	0,087	0,087	0,084	0,089	—	—
10. X.	3	3,300	0,100	0,104	0,106	0,095	0,101	0,098	—
13. X.	5	2,050	0,097	0,091	0,077	0,095	0,091	0,084	—
15. X.	4	3,050	0,101	0,100	0,096	0,096	0,102	0,105	—
1. X.	1	2,300	0,100	0,109	0,104	0,110	0,105	0,103	—
3. X.	3	3,240	0,091	0,095	0,093	0,096	0,092	0,099	—
	Durchschnitt		0,094	0,095	0,093	0,094	0,096	0,101	—

Tabelle XXIV.

Intravenöse Injektion von 1,0proz. **KCl**-Lösung (0,04 g pro Kilogramm).

Datum 1925	Kaninchen Nr.	Kaninchen Körpergew. kg	Vor der Injektion	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.
				nach der Injektion					
16. X.	3	3,000	0,088	0,092	0,086	0,101	0,090	0,092	—
19. X.	2	2,100	0,089	0,088	0,082	0,089	0,088	0,089	—
29. X.	6	2,630	0,100	0,101	0,101	0,098	0,108	0,102	0,100
16. X.	7	1,500	0,098	0,098	0,095	0,103	0,098	0,085	0,084
21. X.	1	2,840	0,113	0,115	0,105	0,112	0,119	0,113	0,107
	Durchschnitt		0,097	0,099	0,094	0,100	0,100	0,096	0,097

Tabelle XXV.

Intravenöse Injektion von 10,0proz. **NaCl**-Lösung (0,5 g pro Kilogramm).

Datum 1925	Nr.	Körpergew. kg	Vor der Injektion	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.
21. I.	1	1,600	0,103	0,122	0,108	0,109	0,109	0,105	0,104
23. I.	2	1,490	0,083	0,102	0,094	0,105	0,084	0,088	0,096
31. I.	3	3,120	0,096	0,121	0,125	0,104	0,094	0,092	—
12. II.	4	2,130	0,084	0,101	0,111	0,109	0,089	0,091	—
	Durchschnitt		0,091	0,111	0,109	0,106	0,094	0,094	0,100

Tabelle XXVI.

Intravenöse Injektion von 10,0proz. **NaCl**-Lösung (0,2 g pro Kilogramm).

Datum	Nr.	Körpergew. kg	Vor der Injektion	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.
10. II.	4	1,930	0,081	0,083	0,088	0,090	0,093	0,096	0,087
12. II.	1	1,580	0,105	0,104	0,110	0,109	0,099	0,089	0,091
17. II.	5	1,770	0,096	0,104	0,095	0,102	0,094	0,096	—
27. II.	5	1,760	0,084	0,094	0,088	0,089	0,094	0,084	0,082
	Durchschnitt		0,091	0,096	0,095	0,097	0.095	0,090	0,088

Tabelle XVII.

Intravenöse Injektion von 1,0proz. **$MgCl_2$**-Lösung (0,04 g pro Kilogramm).

Datum	Nr.	Körpergew. kg	Vor der Injektion	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.
21. I.	1	1,490	0,097	0,102	0,105	0,102	0,100	0,094	0,092
31. I.	2	1,580	0,105	0,104	0,111	0,109	0,119	0,089	0,091
31. I.	3	1,770	0,096	0,104	0,095	0,102	0,094	0,095	—
	Durchschnitt		0,099	0,103	0,103	0,104	0,104	0,093	0,092

Tabelle XVIII.

Untersuchungen mit 10proz. **Traubenzucker**lösung (0,4 g pro Kilogramm).

Datum 1924	Kaninchen Nr.	Kaninchen Körpergewicht kg	Absolute Werte: vor der Injektion	Absolute Werte: 5 Min.	Absolute Werte: 10 Min.	Absolute Werte: 15 Min.	Auf 0,1 der Nüchternwerte umgerechneter Wert: vor der Injektion	Umgerechneter Wert: 5 Min.	Umgerechneter Wert: 10 Min.	Umgerechneter Wert: 15 Min.
				nach der Injektion				nach der Injektion		
26. XI.	2	2,350	0,110	0,263	0,237	0,213	0,100	0,239	0,215	0,194
28. XI.	2	1,610	0,096	0,227	0,201	0,195	0,100	0,236	0,209	0,203
2. XII.	3	1,580	0,112	0,272	0,220	0,212	0,100	0,242	0,196	0,189
15. XII.	4	1,900	0,109	0,256	0,241	0,225	0,100	0,234	0,221	0,206
1925										
7. I.	5	1,640	0,103	0,238	0,204	0,183	0,100	0,231	0,199	0,178
11. I.	6	1,630	0,102	0,240	0,215	0,194	0,100	0,235	0,211	0,190
	Durchschnitt		—	—	—	—	0,100	0,236	0,208	0,193

Tabelle XXIX.

Untersuchungen mit folgender Lösung:

$CaCl_2$ 1,0, Traubenzucker 10,0, Aqua dest. 100,0.

Datum	Kaninchen		Absolute Werte				Auf 0,1 der Nüchternwerte umgerechneter Wert			
	Nr.	Körpergewicht	vor der Injektion	5 Min.	10 Min.	15 Min.	vor der Injektion	5 Min.	10 Min.	15 Min.
1924		kg		nach der Injektion				nach der Injektion		
24. XII.	3	1,520	0,100	0,235	0,198	0,183	0,100	0,235	0,198	0,183
26. XII.	6	1,740	0,090	0,211	0,215	0,182	0,100	0,234	0,239	0,202
1925										
9. I.	5	1,450	0,106	0,215	0,198	0,193	0,100	0,203	0,187	0,182
9. I.	7	1,770	0,133	0,249	0,242	0,238	0,100	0,187	0,182	0,179
Durchschnitt			—	—	—	—	0,100	0,214	0,201	—

Tabelle XXX.

KCl 1,0, Traubenzucker 10,0, Aqua dest. 100,0.

Datum	Nr.	Körpergewicht kg	vor der Injektion	5 Min.	10 Min.	15 Min.	vor der Injektion	5 Min.	10 Min.	15 Min.
1924										
24. XI.	1	2,400	0,104	0,270	0,215	0,206	0,100	0,259	0,206	0,192
28. XI.	3	1,560	0,103	0,277	0,220	0,214	0,100	0,268	0,214	0,208
31. XII.	5	1,500	0,095	0,263	0,221	0,195	0,100	0,276	0,233	0,205
31. XII.	3	1,500	0,086	0,227	0,197	0,196	0,100	0,263	0,229	0,227
29. XII.	6	1,500	0,113	0,281	0,218	0,174	0,100	0,248	0,192	0,175
1925										
12. I.	5	1,430	0,080	0,184	0,163	0,158	0,100	0,230	0,209	0,203
Durchschnitt			—	—	—	—	0,100	0,257	0,214	0,201

Tabelle XXXI.

Untersuchungen in folgender Weise.

10,0proz. Traubenzuckerlösung-Injektion in 10 Minuten nach der 1,0proz. Salzlösung-Injektion.

Traubenzucker 0,4 g, KCl 0,04 g pro Kilogramm.

Datum	Kaninchen		Absoluter Wert					Auf 0,1 der Nüchternwerte umgerechneter Wert				
	Nr.	Körpergewicht	vor	5 Min. nach	5 Min.	10 Min.	15 Min.	vor	5 Min. nach	5 Min.	10 Min.	15 Min.
1924		kg	d. 1. Injektion		nach der 2. Injektion			d. 1. Injektion		nach der 2. Injektion		
1. XII.	2	1,720	0,145	0,154	0,326	0,271	0,265	0,094	0,100	0,211	0,176	0,172
1. XII.	3	1,600	0,105	0,113	0,254	0,227	0,217	0,092	0,100	0,224	0,201	0,192
5. XII.	4	1,960	0,126	0,113	0,240	0,219	0,202	0,111	0,100	0,212	0,194	0,179
15. XII.	3	1,700	0,162	0,163	0,360	0,252	0,230	0,099	0,100	0,220	0,155	0,141
Durchschnitt			—	—	—	—	—	0,099	0,100	0,216	0,181	0,171

Tabelle XXXII.

Traubenzucker 0,4 g, Cl_2Ca 0,04 g pro Kilogramm.

Datum	Nr.											
8. XII.	4	0,089	0,089	0,085	0,245	0,202	0,179	0,105	0,100	0,289	0,238	0,211
9. XII.	3	0,104	0,104	0,101	0,259	0,262	0,238	0,103	0,100	0,256	0,259	0,236
12. XII.	2	0,112	0,112	0,114	0,321	0,280	0,245	0,098	0,100	0,282	0,246	0,215
Durchschnitt			—	—	—	—	—	0,102	0,100	0,276	0,248	0,221

Gewichte: 4 = 2050; 3 = 1,600; 2 = 1,650.

Tabelle XXXIII.

Untersuchungen mit 5,42proz. Traubenzuckerlösung **(Isotonische Lösung).**

0,8 g pro Kilogramm.

Datum 1924	Kaninchen Nr.	Kaninchen Körpergewicht kg	Absolute Werte: vor der Injektion	Absolute Werte: 5 Min. nach der Injektion	10 Min. nach der Injektion	15 Min. nach der Injektion	Auf 0,1 der Nüchternwerte umgerechneter Wert: vor der Injektion	5 Min. nach der Injektion	10 Min. nach der Injektion	15 Min. nach der Injektion
8. IV.	1	1,440	0,128	0,243	0,225	0,219	0,100	0,189	0,175	0,171
8. IV.	2	2,010	0,104	0,194	0,173	0,156	0,100	0,186	0,166	0,165
12. IV.	3	1,380	0,079	0,150	0,131	0,131	0,100	0,189	0,165	0,165
13. IV.	4	2,330	0,117	0,217	0,191	0,183	0,100	0,185	0,163	0,157
13. IV.	5	2,030	0,100	0,183	0,178	0,160	0,100	0,183	0,178	0,160
28. IV.	6	1,480	0,090	0,195	0,171	0,182	0,100	0,216	0,190	0,202
1. V.	7	1,870	0,109	0,183	0,167	0,158	0,100	0,168	0,153	0,144
	Durchschnitt		—	—	—	—	0,100	0,188	0,170	0,164

Tabelle XXXIV.

Untersuchungen mit folgender Lösung:

KCl 1,16, Traubenzucker 5,42, Aqua dest. 100,0.

Traubenzucker 0,3 g pro Kilogramm.

1925	Nr.	kg	vor der Injektion	5 Min.	10 Min.	15 Min.	vor der Injektion	5 Min.	10 Min.	15 Min.
13. IV.	1	1,300	0,112	0,205	0,196	0,178	0,100	0,184	0,175	0,158
16. IV.	4	2,070	0,107	0,216	0,196	0,196	0,100	0,201	0,183	0,183
13. IV.	5	2,090	0,093	0,206	0,167	0,159	0,100	0,221	0,179	0,170
	Durchschnitt		—	—	—	—	0,100	0,202	0,179	0,170

Tabelle XXXV.

Cl_2Ca 1,22, Traubenzucker 5,42, Aqua dest. 100,0.

Traubenzucker 0,3 g pro Kilogramm.

Datum	Nr.	kg	vor der Injektion	5 Min.	10 Min.	15 Min.	vor der Injektion	5 Min.	10 Min.	15 Min.
16. IV.	1	1,350	0,105	0,185	0,171	0,175	0,100	0,176	0,167	0,166
14. IV.	2	1,780	0,103	0,179	0,166	0,145	0,100	0,173	0,162	0,140
15. IV.	4	2,160	0,139	0,212	0,197	0,187	0,100	0,152	0,141	0,134
15. IV.	5	2,080	0,100	0,190	0,182	0,178	0,100	0,190	0,181	0,178
17. IV.	7	2,290	0,115	0,185	0,164	0,165	0,100	0,160	0,142	0,143
	Durchschnitt		—	—	—	—	0,100	0,170	0,152	0,152

Tabelle XXXVI.

Untersuchungen mit folgenden Lösungen.

$MgCl_2$ 1,0, Traubenzucker 5,42, Aqua dest. 100,0.

Traubenzucker 0,3 g pro Kilogramm.

Datum	Nr.	kg	vor der Injektion	5 Min.	10 Min.	15 Min.	vor der Injektion	5 Min.	10 Min.	15 Min.
18. IV.	7	2,040	0,094	0,170	0,160	0,153	0,100	0,180	0,170	0,162
21. IV.	7	1,690	0,084	0,186	0,163	0,140	0,100	0,221	0,191	0,166
22. IV.	4	2,060	0,091	0,191	0,170	0,164	0,100	0,207	0,184	0,178
19. IV.	6	1,620	0,115	0,216	0,202	0,192	0,100	0,188	0,175	0,166
25. IV.	6	1,550	0,102	0,203	0,182	0,179	0,100	0,199	0,178	0,175
	Durchschnitt		—	—	—	—	0,100	0,199	0,179	0,169

Tabelle XXXVII.

NaCl 0,9, Traubenzucker 5,42, Aqua dest. 100,0.
Traubenzucker 0,3 g pro Kilogramm.

Datum 1925	Kaninchen Nr.	Kaninchen Körpergewicht kg	Absolute Werte: vor der Injektion	Absolute Werte: 5 Min. nach der Injektion	Absolute Werte: 10 Min. nach der Injektion	Absolute Werte: 15 Min. nach der Injektion	Auf 0,1 der Nüchternwerte umgerechneter Wert: vor der Injektion	Auf 0,1 umgerechnet: 5 Min. nach der Injektion	Auf 0,1 umgerechnet: 10 Min. nach der Injektion	Auf 0,1 umgerechnet: 15 Min. nach der Injektion
24. IV.	4	1,790	0,111	0,196	0,185	0,162	0,100	0,176	0,167	0,146
23. IV.	6	1,550	0,092	0,224	0,202	0,179	0,100	0,243	0,219	0,174
22. IV.	5	1,910	0,109	0,246	0,199	0,181	0,100	0,225	0,182	0,166
28. IV.	8	2,000	0,102	0,202	0,182	0,158	0,100	0,198	0,178	0,154
Durchschnitt			—	—	—	—	0,100	0,210	0,186	0,165

Tabelle XXXVIII.

Untersuchungen in folgender Weise.
5,42proz. Traubenzuckerlösung-Injektion in 10 Minuten nach der **isotonischen Salzlösung**-Injektion.
Traubenzucker 0,3 g, $MgCl_2$ 0,05 g pro Kilogramm.

Datum 1925	Kaninchen Nr.	Kaninchen Körpergewicht kg	Absolute Werte: vor d. 1. Injektion	Absolute Werte: 5 Min. nach d. 1. Injektion	Absolute Werte: 5 Min. nach der 2. Injektion	Absolute Werte: 10 Min. nach der 2. Injektion	Absolute Werte: 15 Min. nach der 2. Injektion	Auf 0,1 der Nüchternwerte umgerechneter Wert: vor d. 1. Injektion	Auf 0,1 umgerechnet: 5 Min. nach d. 1. Injektion	Auf 0,1 umgerechnet: 5 Min. nach der 2. Injektion	Auf 0,1 umgerechnet: 10 Min. nach der 2. Injektion	Auf 0,1 umgerechnet: 15 Min. nach der 2. Injektion
24. IV.	7	1,900	0,079	0,073	0,139	0,133	0,125	0,108	0,100	0,190	0,182	0,172
22. IV.	4	2,040	0,099	0,107	0,187	0,180	0,168	0,092	0,100	0,174	0,168	0,157
25. IV.	5	2,020	0,092	0,103	0,186	0,163	0,153	0,089	0,100	0,180	0,158	0,148
Durchschnitt			—	—	—	—	—	0,096	0,100	0,181	0,169	0,158

Tabelle XXXIX.

NaCl 0,05 g, Traubenzucker 0,3 g pro Kilogramm.

Datum 1925	Nr.	Körpergewicht kg	vor	5 Min. nach	5 Min.	10 Min.	15 Min.	vor	5 Min. nach	5 Min.	10 Min.	15 Min.
22. IV.	5	2,060	0,097	0,096	0,175	0,172	0,157	0,101	0,100	0,182	0,179	0,163
27. IV.	7	1,870	0,114	0,113	0,178	0,173	0,167	0,100	0,100	0,157	0,153	0,147
29. IV.	8	1,950	0,124	0,121	0,217	0,189	0,180	0,102	0,100	0,179	0,156	0,148
1. V.	7	1,710	0,086	0,093	0,163	0,152	0,144	0,092	0,100	0,175	0,163	0,154
2. V.	6	1,320	0,104	0,119	0,195	0,184	0,184	0,087	0,100	0,163	0,154	0,154
Durchschnitt			—	—	—	—	—	0,096	0,100	0,171	0,161	0,153

Tabelle XL.

5,0proz. NaCl 0,2 g, Traubenzucker 0,3 g pro Kilogramm.

Datum 1925	Nr.	Körpergewicht kg	vor	5 Min. nach	5 Min.	10 Min.	15 Min.	vor	5 Min. nach	5 Min.	10 Min.	15 Min.
25. IV.	9	1,960	0,114	0,123	0,201	0,192	0,141	0,092	0,100	0,163	0,156	0,150
29. IV.	7	1,860	0,097	0,100	0,154	0,138	0,136	0,097	0,100	0,154	0,138	0,136
25. IV.	8	2,140	0,103	0,105	0,193	0,172	0,170	0,098	0,100	0,174	0,163	0,161
4. V.	4	1,670	0,088	0,096	0,161	0,154	0,141	0,091	0,100	0,167	0,160	0,149
Durchschnitt			—	—	—	—	—	0,093	0,100	0,164	0,154	0,149

Tabelle XLI.

Versuche an den scheinbar operierten Kaninchen mit 5,0proz. Cl_2Ca-Lösung.
0,10 g pro Kilogramm.

Datum 1925	Kaninchen Nr.	Körpergew. kg	Nüchternwert	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.
				nach der Injektion					
29. IV.	1	1,800	0,104	0,115	0,122	0,121	0,120	0,114	0,107
2. V.	2	1,900	0,109	0,116	0,121	0,131	0,122	0,121	0,116
14. V.	3	1,930	0,103	0,116	0,120	0,128	0,118	0,119	—
23. V.	4	1,960	0,089	0,097	0,101	0,108	0,112	0,106	—
30. V.	5	1,600	0,125	0,133	0,131	0,143	0,124	—	—
Durchschnitt			0,100	0,115	0,119	0,126	0,119	0,101	—

Tabelle XLII.

Versuche an den einseitigen (links) nebennierenlosen Kaninchen innerhalb **24 Stunden** nach der Operation mit 5,0proz. **Cl_2Ca-Lösung.**

Datum 1925	Kaninchen Nr.	Körpergewicht kg	Cl_2Ca-Dosis pro kg g	Nüchternwert	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	3 Std.	Lebensdauer Tage
					nach der Injektion							
29. I.	1	2,080	0,20	0,105	0,105	0,090	0,092	0,088	0,097	0,088	0,092	12
5. II.	2	2,180	0,20	0,086	0,086	0,075	0,068	0,066	0,064	0,062	0,064	15
19. II.	3	1,900	0,15	0,082	0,074	0,091	0,074	0,076	0,085	0,070	—	6
18. III.	4	1,600	0,15	0,115	0,114	0,119	0,116	0,122	0,111	0,115	—	9
25. III.	5	1,700	0,10	0,106	0,108	0,108	0,102	0,109	0,094	0,095	—	5
23. IV.	6	1,910	0,15	0,081	0,087	0,079	0,074	0,075	0,073	0,070	—	—
10. III.	7	1,910	0,29	0,057	0,048	0,056	0,052	0,053	0,046	—	—	—
Durchschnitt . .				0,090	0,089	0,088	0,083	0,084	0,081	0,083	—	—

Nr. 7 ist 5 Stunden nach Injektion gestorben.

Tabelle XLIII.

Versuche an den einseitigen **(links) nebennierenlosen** Kaninchen in **etwa 1 Woche** nach der Operation mit 5proz. **Cl_2Ca**-Lösung.

Datum 1925	Kaninchen Nr.	Körpergewicht kg	Cl_2Ca-Dosis pro kg g	Nüchternwert	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.
					nach der Injektion					
13. II.	2	2,130	0,20	0,119	0,122	0,116	0,128	0,106	0,115	—
8. V.	8	1,850	0,20	0,094	0,095	0,094	0,095	0,101	0,099	0,099
17. IV.	9	1,936	0,15	0,123	0,126	0,129	0,124	0,125	0,123	0,120
Durchschnitt . . .				0,112	0,114	0,113	0,116	0,111	0,112	0,109

Tabelle XLIV.

Versuche an den einseitigen **(links) nebennierenlosen** Kaninchen in **10 Tagen** nach der Operation mit 5proz. **Cl_2Ca**-Lösung.

Datum	Nr.	Körpergewicht kg	Dosis pro kg g	Nüchternwert	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.
8. II.	1	1,990	0,15	0,110	0,122	0,118	0,135	0,113	0,104	0,107
19. II.	2	2,010	0,20	0,096	0,131	0,153	0,175	0,179	0,154	0,097
6. III.	10	1,850	0,10	0,094	0,092	0,106	0,111	0,107	0,107	—
Durchschnitt . . .				0,100	0,115	0,126	0,140	0,133	0,121	0,102

Tabelle XLV.

Versuche an den **doppelseitig nebennierenlosen Kaninchen** innerhalb **24 Stunden** nach der Operation mit **5 proz.** $\mathbf{Cl_2Ca}$-**Lösung.**

Datum 1925	Kaninchen Nr.	Körpergewicht kg	Cl_2Ca-Dosis pro kg g	Nüchternwert	5 Min. nach der Injektion	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.
10. II.	1	1,910	0,20	0,057	0,048	0,056	0,052	0,053	0,046	—
30. IV.	11	1,780	0,20	0,072	0,075	0,064	0,068	0,073	0,068	0,056
30. IV.	12	1,920	0,15	0,094	0,091	0,091	0,094	0,095	0,099	—
	Durchschnitt . . .			0,074	0,071	0,070	0,071	0,073	0,071	—

Die Literaturzusammenstellung findet sich am Schlusse der dritten Mitteilung.

Über die Ionenwirkung auf die Leberfunktion und den Zuckerstoffwechsel.

III. Mitteilung:

Die Wirkung des Ca und Na auf die Leberfunktion in bezug auf den Zuckerstoffwechsel.

Von

N. Heianzan.

(Aus der experimentell-therapeutischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 10. August 1925.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Ich habe in der zweiten Mitteilung die Salzwirkung auf den normalen Blutzuckerspiegel und die alimentäre Hyperglykämie behandelt. Nun taucht die Frage auf, ob und wie die Salze, die auf den normalen Blutzuckerspiegel steigernd wirken, dabei der Mitwirkung der Leber bedürfen.

Um diese Frage zu lösen, bin ich folgendermaßen vorgegangen.

Man kann die Leberfunktion beeinflussen: 1. durch die Freimachung der Leber von Glykogen (Hunger), 2. durch Schädigung oder Ausschaltung des Lebergewebes.

A. Die Wirkung der Ionen beim hungernden Kaninchen auf den Blutzucker.

In den früheren Abschnitten unserer Arbeit hatte ich die Wirkung der Ionen auf den Blutzucker beim nüchternen Kaninchen, d. h. bei einem Kaninchen, das etwa 15 Stunden keine Nahrung mehr bekommen hatte, untersucht. Nunmehr schildere ich die Wirkung ebendieser Ionen auf den Blutzucker bei Kaninchen, die 4 bis 7 Tage keine Nahrung und kein Wasser bekommen hatten.

Nachdem die Tiere 4 bis 7 Tage gehungert und gedurstet hatten, habe ich dem jeweiligen Tiere (drei Tieren) vormittags eine intravenöse $CaCl_2$-Injektion gemacht und dann mindestens 4 Stunden später eine $NaCl$-Injektion. Ich wollte durch diese sukzessionierte Injektion von $CaCl_2$ und $NaCl$ sehen, ob es möglich wäre, bei Hungertieren eine Hyperglykämie zu erzeugen. Ich habe nun vor der Salzinjektion und dann fortlaufend nach jeder Salzinjektion nach 5, 10, 15, 30, 60, 120 und 180 Minuten den Blutzucker bestimmt und dann 2 oder 3 Stunden nach der zweiten Mineralstoffinjektion die Tiere durch Entbluten getötet und das Leberglykogen nach *Rona* und *v. Eweyk* (57) mit

Hilfe des Nephelometers bestimmt. Im ganzen benutzte ich zu diesen Versuchen neun Kaninchen (Tabelle XLVI und XLVII).

Tabelle XLVI.

Versuche an den **hungernden** Kaninchen, vormittags mit **5,0 proz.** $\mathbf{Cl_2Ca}$-Lösung (0,1 g pro Kilogramm).

Nr.	Datum des Hungerns	Abnahme des Körpergewichts	Nüchternwert	Nach Injektion 5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Stdn.	3 Stdn.	Glykogengehalt der Leber
1	6. III. 10. III.	1,650 1,310	0,028	0,029	0,044	0,037	0,050	0,042	0.043	0,03	—
2	11. III. 17. III.	2,010 1,750	0,101	0,110	0,106	0,141	0,122	0,127	0,110		—
3	18. II. 24. II.	1,970 1,450	0,126	0,130	0,14 7	0,146	0,144	0,130			—
4	2. III. 8. III.	1,830 1,540	0,112	0,127	0,136	0,142	0,161	0,160	0,139	0,111	
5	18. II. 24. II.	1,650 1,150	0,059	0,060	0,055	0,062	0,055	0,056	0,04		—
6	26. II. 5. III.	3,388 2,610	0,102	0,103	0,1 06	0,108	0,133	0,110	0,114	0,109	—
	Durchschnitt		0,088	0,093	0,099	0,107	0,111	0,104	0,089		
7*	31. V. 5. VI.	1,600 1,080	0,200	0,217	0,204	0,213	0,233	0,226			—

*) Scheinbar operiertes Kaninchen.

Tabelle XLVII.

Versuche an den **hungernden** Kaninchen, nachmittags mit **10 proz.** **ClNa**-Lösung (0,5 g pro Kilogramm).

Nr.	Datum des Hungerns	Abnahme des Körpergewichts	Nüchternwert	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Stdn.	3 Stdn.	Glykogengehalt der Leber
8		1,650 1,310	0,029	0,032	0,037	0,044	0,045	0,048	0,04	0,024	—
9	12. II. 17. II.	2,130 1,660	0,093	0,137	0,091	0,091	0,089	0,092			
4			0,123	0,143	0,143	0,145	0,149	0,111			
5			0,066	0,06	0,066	0,072	0,070	0,060	0,067		
6			0,082	0,092	0,094	0,098	0,095	0,073			
	Durchschnitt		0,078	0,093	0,086	0,090	0,089	0,077			

Nach der $CaCl_2$-Injektion vermehrte sich der Blutzucker vorübergehend. Die Kurve verlief ungefähr wie beim nüchternen Tiere, nur lag das Maximum beim hungernden Tiere etwas später. Als ich nun NaCl bei demselben Kaninchen injizierte, trat von 5 Minuten ab nach der Injektion eine Steigerung des Blutzuckers ein. Außerdem habe

ich bei zwei Hungertieren (Nr. 8 und 9) nur die NaCl-Injektion gemacht und ebenfalls die Blutzuckersteigerung gefunden. Im Durchschnitt tritt die Steigerung 5 Minuten nach der Injektion ein. Später verläuft die Kurve unregelmäßig. Die Lebern aller dieser Tiere waren glykogenfrei.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß bei den Hungertieren der Blutzucker weit vor der Salzinjektion bald etwas vermehrt, bald etwas verringert war, wie es schon *Collazo* und *Händel* (46) angaben; vor allem aber sehen wir, daß ganz unabhängig vom Glykogengehalt der Leber, $CaCl_2$ und NaCl--Injektionen eine Hyperglykämie machen.

B. Die Wirkung der Ionen beim phosphorvergifteten Kaninchen auf den Blutzucker.

Ich habe acht Kaninchen mit Phosphor vergiftet. (Tabelle XLVIII). Ich injizierte täglich oder alle 2 oder 3 Tage von einer 1 proz. Phosphoröllösung 0,002 bis 0,003 pro Tier subkutan. Die Tiere wurden vor

Tabelle XLVIII.

Versuche an den mit Phosphor vergifteten Kaninchen mit intravenöser Injektion von 5,0proz. Cl_2Ca-Lösung (0,15 g pro Kilogramm).

Nr.	Datum 1925	Körpergewicht kg	Gesamtmenge d. inj. Phosphors g	Zahl der Injektionstage	Nüchternwert	Nach Injektion 5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Stdn.	Glykogengehalt der Leber Proz.
1	2. II.	1,850	0,011	7	0,071	0,07	0,072	0,061	0,059	0,076	0,065	
2	2. II.	2,170	0,008	7	0,113	0,101	0,093	0,102	0,115	0,110	0,104	1,2
3	13. II.	1,890	0,013	10	0,088	0,082	0,084	0,084	0,083	0,080	0,065	
4	6. II.	2,240	0,006	3	0,108	0,113	0,102	0,114	0,106	0,110	0,101	—
5	16. III.	1,470	0,006	4	0,084	0,082	0,088	0,069	0,091	0,090	0,083	2,7
6	30. V.	2,200	0,006	4	0,087	0,081	0,082	0,073	0,071	0,067		—
7	28. V.	2,080	0,006	3	0,067	0,067	0,057	0,063	0,064	0,062		—
Durchschnitt					0,088	0,085	0,083	0,081	0,084	0,085	0,083	
8	16. II.	1,880	0,0215	13	0,188	0,198	0,181	0,175	0,166	0,156	0,158	3,2

Tabelle XLIX.

Versuche **an den** mit **Phosphor** vergifteten Kaninchen mit intravenöser Injektion von **5,0proz.** Cl_2Ca-Lösung (0,15 g pro Kilogramm).

Nr.	Datum	kg	g	Tage	Nüchternwert	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Stdn.	Proz.
5	15. III.	1,570	0,004	3	0,084	0,092	0,099	0,091	0,093	0,086	0,084	
9	9. V.	1,650	0,0045	3	0,132	0,147	0,141	0,145	0,158	0,155	0,119	—
Durchschnitt					0,108	0,119	0,120	0,118	0,125	0,120	0,101	

Tabelle L.

Mit intravenöser Injektion von **10proz. NaCl**-Lösung (0,5 g pro Kilogramm).

Nr.	Datum	kg	g	Tage	Nüchternwert	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Stdn.	Proz.
3	12. II.	1,990	0,0130	9	0,086	0,082	0,084	0,088	0,090	0,070		
4	10. II.	1,960	0,0105	7	0,100	0,109	0,100	0,096	0,105	0,105	0,102	—
Durchschnitt					0,093	0,095	0,092	0,092	0,097	0,087		

der Blutuntersuchung 15 Stunden nüchtern gehalten. Dann wurde beim nüchternen Tiere die Blutzuckerbestimmung gemacht, darauf wurde demselben Tiere an einem Tage $CaCl_2$, an einem anderen Tage NaCl injiziert und der Blutzuckerspiegel in der üblichen Weise verfolgt. Nach der $CaCl_2$-Injektion sah ich bei neun Kaninchen keine Blutzuckersteigerung, obwohl die Leber in drei Fällen glykogenhaltig war. Als ich aber bei zwei von diesen neun Tieren dieselbe $CaCl_2$-Dosis injiziert hatte zu einer Zeit, in der die Tiere erst eine geringere Phosphordosis bekommen hatten, war auch eine Hyperglykämie zustande gekommen (Tabelle XLIX und Abb. 1). Die $CaCl_2$-Hyperglykämie verschwindet also erst dann, wenn das Tier stärker mit Phosphor vergiftet ist.

Die NaCl-Injektion hatte aber weder beim schwächer, noch beim stärker mit Phosphor vergifteten Tiere irgend einen Einfluß auf den Blutzucker (Tabelle L und Abb. 1).

Die mikroskopische Untersuchung der Leber zeigte die bekannten Veränderungen bei der Phosphorvergiftung.

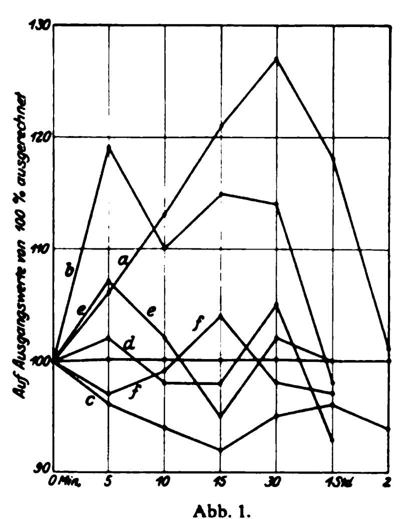


Abb. 1.

a) Kurve für hungerndes Kaninchen mit $CaCl_2$-Versuch.

b) Kurve für hungerndes Kaninchen mit NaCl-Versuch.

c) Kurve für hungerndes und phosphorvergiftetes Kaninchen mit $CaCl_2$-Versuch.

d) Kurve für hungerndes und phosphorvergiftetes Kaninchen mit NaCl-Versuch.

e) Kurve für Kaninchen mit unterbundenem Ductus choledochus und $CaCl_2$-Versuch.

f) Kurve für Kaninchen mit unterbundenem Ductus choledochus und NaCl-Versuch.

Mikroskopischer Befund.

Leber.

Phosphorvergiftung.

Nr. 1. Kein Lipoid, trübe Schwellung zahlreicher Leberzellen.

Nr. 3. Wenig Lipoid in *Kupfer*schen Sternzellen und ganz vereinzelt in Leberzellen. Lymphocytäre Rundzellenansammlung im interlobulären Bindegewebe. Stauungsblutüberfüllung.

Nr. 5. Geringfügige herdförmige Lipoidablagerungen in den *Kupfer*schen Sternzellen und etwas reichlicher in Spindelzellen des interlobulären Bindegewebes.

Nr. 9. Nur sehr wenig Lipoid in Leberzellen und in *Kupfer*schen Sternzellen. Rundzellenansammlungen im interlobulären Bindegewebe.

Nr. 6. Wenig Lipoid in Leberzellen und *Kupfer*schen Sternzellen. Lymphocytäre Rundzellenansammlungen im interlobulären Bindegewebe.

Nr. 7. Sehr reichliche fein- bis großtropfige Lipoidablagerung in Leberzellen, ziemlich diffus, in den Randteilen am stärksten. Kleine interlobuläre Rundzellenfiltrate.

C. Die Wirkung der Ionen beim Kaninchen nach der Ductus-choledochus-Unterbindung.

Ich machte meine Versuche an fünf Kaninchen. Die Salzinjektionen machte ich 24 bis 48 Stunden nach der Ductusunterbindung. In zwei Fällen sah ich, daß die 24 Stunden nach der Unterbindung vorgenommene $CaCl_2$-Injektion den Blutzucker etwas steigerte, in fünf Fällen sah ich, daß die 24 oder 48 Stunden nach der Ductusunterbindung vorgenommene $CaCl_2$-Injektion keine Wirkung auf den Blutzucker hatte. In allen Fällen war die Leber glykogenfrei. Die Tiere waren gefüttert worden; die Injektionsversuche wurden nicht am nüchternen Tiere gemacht (Tabelle LI und LIII und Abb. 1).

Die NaCl-Injektion machte ich an drei Kaninchen. Niemals trat eine Blutzuckersteigerung auf (Tabelle LII und Abb. 1).

Tabelle LI.

Versuche an den choledochusunterbundenen Kaninchen mit intravenöser Injektion von **5,0 proz.** Cl_2Ca-Lösung (0,15 g pro Kilogramm).

Nr.	Datum 1925	Körpergewicht kg	Stundenzahl nach der Operation	Nüchternwert	Nach Injektion 5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Stdn.	Glykogengehalt der Leber Proz.
1	9. V.	1,750	48	0,081	0,092	0,084	0,085	0,085	0,091	0,082	—
2	5. V.	1,670	24	0,089	0,090	0,090	0,082	0,088	0,093	0,081	—
4	18. V.	2,150	24	0,111	0,120	0,113	0,101	0,109	0,093		—
5	24. V.	1,700	24	0,105	0,112	0,104	0,102	0,109	0,096		
7	12. V.	2,600	24	0,093	0,104	0,099	0,093	0,100	0,106		—
	Durchschnitt . . .			0,096	0,103	0,098	0,092	0,098	0,096	0,082	

Tabelle LII.

Versuche an den choledochusunterbundenen Kaninchen mit intravenöser Injektion von **10,0 proz. ClNa**-Lösung (0,5 g pro Kilogramm).

Nr.	Datum	Körpergewicht	Stundenzahl	Nüchternwert	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Stdn.	Glykogen
3	18. V.	1,880	48	0,104	0,094	0,101	0,101	0,092	0,090		—
6	11. VI.	2,680	24	0,098	0,103	0,100	0,112	0,106	0,107		2,4
	Durchschnitt . . .			0,101	0,098	0,100	0,106	0,099	0,098		
8	9. VI.	1,620	24	0,168	0,168	0,167	0,166	0,166	0,168		—

Tabelle LIII.

Versuche an den **choledochusunterbundenen** Kaninchen mit intravenöser **Injektion** von Cl_2Ca-Lösung (0,15 g pro Kilogramm).

Nr.	Datum	Körpergewicht	Stundenzahl	Nüchternwert	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Stdn.	Glykogen
1	8. V.	1,995	24	0,103	0,127	0,116	0,121	0,116	0,113	0,105	
4	17. V.	2,240	24	0,117	0,128	0,130	0,131	0,132	0,131	0,121	—
	Durchschnitt . . .			0,110	0,127	0,123	0,126	0,124	0,122	0,113	

Ferner habe ich die Leber dieser Kaninchen mikroskopisch untersucht und gefunden, daß die Leber im Anschluß an die Ductusunterbindung geschädigt worden war.

Mikroskopischer Befund.

Leber.

Choledochusunterbindung.

Nr. 2. Zahlreiche, meist kleine *Nekrosen*. Lymphocytäre Rundzellenansammlung im interlobulären Bindegewebe. Wenig feintropfiges Lipoid in *Kupfer*schen Sternzellen und in Leberzellen.

Nr. 3. Zahlreiche kleinere und größere herdförmige *Nekrosen*. Lipoidablagerung in den Reticulumzellen, besonders den Randpartien. Interlobuläre lymphocytäre Rundzellenansammlung.

Nr. 3. *Keine Nekrosen*. Mäßig viel Lipoid in *Kupfer*schen Sternzellen, weniger in Leberzellen. Sehr reichliche Lymphocytenansammlung im interlobulären Bindegewebe.

Nr. 8. Multiple herdförmige *Nekrosen* mit Lipoidablagerungen in Reticulumzellen. Sehr ausgedehnte Rundzellenansammlungen im interlobulären Bindegewebe. Mäßig viel Lipoid in den *Kupfer*schen Sternzellen, sehr wenig in den Leberzellen. Stauungsblutüberfüllung.

Nr. 5. Kein Lipoid. Starke Gallenstauung in erweiterten größeren Gallengängen. Stauungsblutüberfüllung.

Nr. 6. Ausgedehnte *herdförmige Nekrosen*, reichliches Lipoid in *Kupfer*schen Sternzellen, weniger in den Leberzellen.

Nr. 7. Ausgedehnte herdförmige Nekrosen, wenig Lipoid in *Kupfer*schen Sternzellen, ganz vereinzelt in den Leberzellen.

Anhangsweise sei hier noch erwähnt, daß bei meinen phosphorvergifteten Kaninchen, wie auch bei den Kaninchen mit unterbundenem Ductus choledochus die Adrenalininjektion immer eine Hyperglykämie machte.

Nr.	Menge des inj. Adrenalins mg	Menge des inj. Phosphors g	Nüchternwert	Nach der Injektion 30 Min.	60 Min.	90 Min.
		Phosphorvergiftete Kaninchen (3 Kaninchen)				
1*)	0,2	0,011	0,036	0,06	—	—
2	0,5	0,009	0,111	0,124	—	0,184
3	0,5	0,008	0,119	0,176	0,184	—
		Choledochusunterbundene Kaninchen (2 Kaninchen)				
1	0,2	24 Stdn. nach der Operation	0,109	0,146	0,180	0,274
2	0,1	48 Stdn. nach der Operation	0,092	0,138	—	—

*) Zwei Stunden nach der Injektion gestorben.

Schlußbetrachtung.

Aus der Literaturzusammenstellung bei *Bang* ergibt sich, daß bei Ausschaltung der Leber (Exstirpation, *Eck*sche Fistel, Unterbindung der Lebergefäße) durch Adrenalin keine Hyperglykämie mehr zustande kommt. *Magath* und *Mann* (58) und ihre Mitarbeiter fanden

die Blutzuckerabnahme nach der Leberexstirpation am Hunde, sie fanden aber auch, daß die Blutzuckerabnahme größer ist, als es dem Muskelglykogen entspricht. Daraus geht hervor, daß das Muskelglykogen ohne die Leber nicht den normalen Blutzuckerspiegel aufrecht erhalten kann. Auch die totale Pankreasexstirpation kann bei partieller Leberausschaltung (*Eck*sche Fistel) keine stärkere Blutzuckersteigerung bewirken.

Aus alledem folgt, daß die Leberfunktion unbedingt notwendig ist für die Hyperglykämie nach der Adrenalininjektion oder der Pankreasexstirpation und für die Erhaltung des normalen Blutzuckerwertes. Die Phosphorvergiftung und die Ductus-choledochus-Unterbindung schalten also die Leber nicht vollständig genug aus, um die Adrenalinhyperglykämie zu verhindern.

Die Adrenalinhyperglykämie ist also an die Leber gebunden.

Ohne Leber kommt also die Adrenalinhyperglykämie auch dann nicht zustande, wenn der Muskel noch Glykogenvorräte besitzt. Das Adrenalin kann also ohne Leber das Muskelglykogen jedenfalls nicht mobilisieren; daß das Adrenalin das Muskelglykogen nur bei Vorhandensein der Leber zu mobilisieren vermag, kann man vermuten, weil Adrenalin bei glykogenfreier Leber noch Hyperglykämie macht. Auch der Abbau (Freiwerden) des Eiweißzuckers findet mit Hilfe der Leber statt [*Bierry* und *Rathery* (59)].

Bei der partiell geschädigten Leber (Phosphorvergiftung, Ductusunterbindung), die noch eine Adrenalinhyperglykämie zustande kommen läßt. ist aber $CaCl_2$ und NaCl wirkungslos, obwohl diese Salze bei glykogenfreier Leber (hungerndes Tier) genau wie Adrenalin noch Hyperglykämie machen.

Daraus ergibt sich, daß diese Ionen noch sehr viel mehr wie das Adrenalin eine normal funktionierende Leber nötig haben, um eine Hyperglykämie zu machen. Die Ionenhyperglykämie ist also zu ihrem Zustandekommen noch viel mehr auf die Leber angewiesen als die Adrenalinhyperglykämie. Die Unterschiede sind *quantitativ*.

Wenn man die Hypothese macht, daß die Leber einen Stoff sezerniert, woran auch *Mann* und *Magath* denken, der befähigt ist, die Mobilisation des Glykogens aus der Muskulatur und anderen Geweben zu befördern, dann versteht man, warum die *Existenz* der Leber und *nicht* ein *Glykogengehalt* der Leber nötig ist, wenn Adrenalin oder die Ionen eine Hyperglykämie machen sollen. Ob dann die Ionen das vorbereitete Muskelglykogen, oder ob sie die Leberzellen zur Produktion des Vorbereitungsstoffes angreifen, das bleibt unentschieden, obschon bei der Schnelligkeit des Eintritts der Hyperglykämie nach der Ioneninjektion alles mehr für eine Ionenwirkung auf das Muskelglykogen spricht.

Zusammenfassung der Ergebnisse aller drei Mitteilungen.

1. Die Ionen Ca, Mg, Na, $NaHCO_3$ hemmen, K befördert den Gallenabfluß beim Gallenblasenfistelhund mit unterbundenem Ductus choledochus. Diese Wirkung kommt bei Ca und K durch Beeinflussung der sekretorischen Tätigkeit der Leberzellen zustande, bei Na aber handelt es sich nur um eine allgemeine Salzwirkung.

2. Die Ionen Ca und Na steigern den normalen Blutzucker beim normalen Tiere; K und Mg zeigen bei der technisch möglichen Dosierung keine Wirkung. Beim nebennierenlosen Tiere wird die hyperglykämisierende Ca-Wirkung durch den Adrenalinmangel gehemmt.

Beim alimentär-hyperglykämischen Tiere wird die Wirkung von Ca, Mg, Na und K auf den Blutzucker modifiziert, je nachdem, ob die Ionen gleichzeitig mit dem Zucker oder vor der Zuckerzufuhr injiziert werden. Ca macht bei gleichzeitiger Injektion zuerst eine Senkung, dann eine Steigerung des Blutzuckers, K, Na und Mg verhalten sich umgekehrt. Bei vorzeitiger Ioneninjektion und nachfolgender Zuckerinjektion verhält sich die Ionenwirkung folgendermaßen: Ca steigert, Na, Mg und K senken den Blutzucker.

3. Zum Zustandekommen der Ionenwirkungen auf den Blutzucker ist die Existenz der Leber erforderlich, aber nicht das Leberglykogen.

Auf die sekretorische Leberfunktion wirken im Sinne einer Sympathicusreizung hemmend Ca, Na, Mg, im Sinne einer Parasympathicusreizung steigernd K.

Auf den Blutzucker wirken die Ionen doppelsinnig, entweder initial im Sinne einer Sympathicusreizung und später im Sinne einer Parasympathicusreizung (K) oder umgekehrt (Ca, Na, Mg).

Literatur.

1) *H. Kraus* und *S. G. Zondek* u. a., diese Zeitschr. **132**, 1922; Klin. Wochenschr. Nr. 9, 1923; ebendaselbst, Jahrg. 3, Nr. 17, 1914; Jahrg. 4, Nr. 17, 1925; Nr. 19, 1925. — 2) *D. Loewi*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **88**, 1918. — 3) *Kolm* und *Pick*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **185**, 1920. — 4) *Sollmann*, zitiert nach *Hochfeld*. — 5) *Mukoyama*, diese Zeitschr. **157**, H. 3/4, 1925. — 6) *H. Zondek*, Deutsch. med. Wochenschr. Nr. 12, 1924; Klin. Wochenschr., Jahrg. 3, Nr. 39, 1924; Jahrg. 4, Nr. 1, 1925. — 7) *Adachi*, diese Zeitschr. **140**, 1923. — 8) *Westphal*, Verhandl. d. Kong. f. inn. Med. 1922. — 9) *Winkelstein*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **36**, 1923. — 10) *Watanabe*, Zeitschr. f. d. ges. physik. Therap. **28**, H. 4, 1924; Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **40**, 1924. — 11) *Müller* und *Grewing*, Verhandl. d. Kongr. f. inn. Med. 1922. — 12) *Simon*, Zeitschr. f. d. ges. physik. Ther. **29**, H. 1, 1924. — 13) *Naunyn*, *Stadelmann*, *Specht*, *Nissen*, *Rutherford*, zitiert nach *Simon*. — 14) *Leites*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **44**, H. 1/2, 1925. — 15) *G. Meier*, ebendaselbst **46**, H. 3/4, 1925. — 16) *Lepehne*, „Die Leberfunktionsprüfung" Halle a. S., 1923. — 17) *Hatieganu*, zitiert nach *Lepehne*. — 18) *Hesse* und *Wörner* u. a., Klin. Wochenschr. Nr. 23. 42, 52, 1922. —

19) *Winkelstein*, Arch. f. Verdauungskr. **82**, H. 1/2. — 20) *Rosenthal* und *v. Falkenhausen*, zitiert nach *Hesse*. — 21) *Wilenko*, Intern. Beitr. z. Pathol. u. Therap. der Ernährungsstörungen 2. Berlin, Verlag Hirschwald. — 22) *Bang*, Der Blutzucker. 1913. — 23) *E. Neubauer*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **61**, 1909. — 24) *Hornemann*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **44**, H. 3/4, 1923. — 25) *Hino*, nach dem Manuskript zitiert. — 26) *Bornstein* und *Griesbach*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **44**, H. 3/4, 1923. — 27) *Bornstein* und *R. Vogel*, diese Zeitschr. **122**, 1921; **126**, 1921. — 28) *Schiwkauer*, Zeitschr. f. klin. Med. **78**, 1913. — 29) *Offenbacher* und *Hahn*, „Über d. Bedeutung des Alimentärversuches". Berlin 1923. — 30) *Isaak*, Med. Klinik 47, 1920. — 31) *H. Strauss*, Deutsch. med. Wochenschr. 1901, Nr. 44 und 45. — 32) *Hohlweg*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **97**, H. 5/6, 1909. — 33) *Heteny*, Deutsch. med. Wochenschr. Nr. 13 und 23, 1922. — 34) *S. G. Zondek* und *Benatt*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **43**, H. 3/4. — 35) *Barath*, Klin. Wochenschr., Jahrg. 3, Nr. 36, 1925. — 36) *Underhill* und *Kleiner*, zitiert in „Blutzucker" von *I. Bang*, 1913. — 37) *Hochfeld*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **37**, H. 1/2. — 38) *Schenk*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **11** und **12**, 1921. — 39) *Kylin* und *Engel* u. a., Klin. Wochenschr., Jahrg. 4, Nr. 6, 11, 14, 20, 1925. — 40) *Külz*, *Bock*, *Hoffman*, *Bürnett*, zitiert in „Blutzucker" von *I. Bang* 1913. — 41) *Naito*, The Tokokujourn. of exper. Med. 1, 1920. — 42) *Fischer* und *Brown*, Classon, zitiert in „Blutzucker" von *I. Bang* 1913. — 43) *Wilenko*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **66**, 1911. — 44) *Karger*, Klin. Wochenschr., Jahrg. 4, Nr. 24, 1925. — 45) *H. Zondek* und *Ucko*, ebendaselbst, Jahrg. 4, Nr. 1, 1925. — 46) *Haendel*, diese Zeitschr. **146**, H. 5/6. — 47) *Lorant*, Klin. Wochenschr., Jahrg. 1, Nr. 43, 1922. — 48) *Arnoldi* und *Ettinger*, ebendaselbst, Jahrg. 1, Nr. 42, 1922. — 49) *Semler*, ebendaselbst, Jahrg. 4, Nr. 15, 1922. — 50) *Mc Guigan*, zitiert nach *Händel*. — 51) *Leites*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **44**, H. 3/4. — 52) *Billigheimer*, Klin. Wochenschr Nr. 6, 1922; Nr. 22, 1923. — 53) *Dresel*, ebendaselbst, Jahrg. 4, Nr. 22, 1925. — 54) *Vollmer*, ebendaselbst, Jahrg. 3, Nr. 50, 1924. — 55) *R. Kaewel*, Zeitschr. f. klin. Med. **100**, H. 1/4. — 56) *B. Kisch*, Klin. Wochenschr., Jahrg. 3, Nr. 37, 1924. — 57) *P. Rona* und *C. van Eweyk*, diese Zeitschr. **149**, H. 1/2, 1924. — 58) *F. C. Mann* und *Magath*, The Amer. Journ. of Physiol. **55**, Nr. 2, 1921; Arch. of intern. Med. **31**, 1923; **30**, 1922. — 59) *Bierry* und *Rathery*, zitiert in „Das Insulin" von *Laqueuer*.

Über die Konzentration von Eiweißlösungen und anderen Solen hydrophiler Kolloide mit Hilfe des elektrischen Stromes.

Von

Josef Reitstötter und **Grete Lasch.**

(Aus dem sero-bakteriologischen Institut der Elektro-Osmose-A.-G. Berlin.)

(Eingegangen am 28. August 1925.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die Konzentration von Solen *hydrophober* Kolloide mit Hilfe des elektrischen Stromes ist schon seit langem bekannt und wird auch seit den grundlegenden Arbeiten des Grafen *Botho Schwerin* technisch verwertet (1). *H. Bechold* und *A. Rosenberg* (2) veröffentlichen nun neuerdings ein Verfahren zur Konzentration von Gelatinen und Leimlösungen, also *hydrophiler* Kolloide, mit Hilfe des elektrischen Stromes, welches Verfahren sie „*Elektro-Ultrafiltration*" nennen.

Aber auch dieses Verfahren hat bereits seine Vorläufer, denn in der D. R.-P.-Schrift 333575 vom 12. September 1919 (3) wird bereits ein ähnliches Verfahren zur Konzentration von kolloidgelösten Stoffen beschrieben, wie es jetzt von *H. Bechold* angegeben wird. Wir halten es daher für angezeigt, heute etwas ausführlicher, ohne auf Einzelheiten einzugehen, über jene Versuche zu berichten, die wir bereits im Jahre 1919 angestellt hatten, und die zur vorgenannten Patentanmeldung geführt haben. Da der eine von uns (*Reitstötter*) damals an der Weiterarbeit verhindert war, mußten die Versuche abgebrochen werden.

Wir verwandten bereits eine im Prinzip sehr ähnliche Anordnung, wie sie jetzt *H. Bechold* beschreibt, nur verzichteten wir auf die Anwendung von Unterdruck, da der elektrophoretische Konzentrationseffekt bei geeigneten Versuchsbedingungen allein schon vollauf befriedigte und eine weitere Steigerung durch Anwendung von Unterdruck kaum mehr zu erhoffen war. Im Gegenteil besteht sogar bei Anwendung von Unterdruck stets die Gefahr des Verstopfens der Filterfläche (Diaphragmenfläche) durch das darauf sich abscheidende Gel, wodurch dann leicht ein völliger Stillstand jeder weiteren Abscheidung von Flüssigkeit eintritt. Die praktische Unmöglichkeit z. B. Gelatinelösungen durch Ultrafiltration allein zu konzentrieren, ist bekannt. Der Grundgedanke unserer damaligen Versuche war

der folgende: Ein hydrophiles Kolloid [Eiweißlösungen, Gelatine, $Fe(OH)_3$-Sole und dergleichen] ist zu konzentrieren und gleichzeitig von vorhandenen Elektrolyten und sonstigen Verunreinigungen zu befreien. Dieses Ziel erreichen wir durch Behandlung der zu konzentrierenden Lösung in einem Dreizellen-Elektrodialysierapparat mit Diaphragmen bestimmter Porenweite und bestimmten Potentials (4).

Der für die Ausführung unserer Versuche benutzte Apparat, den wir gemeinsam mit Dr. *E. Langstein* gebaut haben, hatte die in den Abb. 1 und 2 dargestellte Form. Der Apparat besteht aus einem Gefäß *G*, welches durch zwei Diaphragmen D_1 und D_2 in die Räume *KR*, *MR* und *AR* geteilt ist; hinter den Diaphragmen sind passende Elektroden, und zwar im Raume *KR* die Kathode *K*, als welche wir ein feinmaschiges Messingdrahtnetz verwandten, und im Raume *AR* die Anode *A* angeordnet, als welche wir ein grobmaschiges Netz aus Platindraht benutzten. Der Mittelraum *MR* dient zur Aufnahme des zu konzentrierenden Hydrosols. Bei kathodischer Abwanderung des Wassers bringt man im Kathodenraum *KR* ein Überlaufrohr *U* mit einem unteren Abfluß an, welches im Falle anodischer Abwanderung des Wassers in den Anodenraum *A* verlegt wird. In den Anoden- und Kathodenraum bringt man besonders bei Verarbeitung temperaturempfindlicher Sole (wir untersuchten damals auch eine Reihe von Immunseren) Kühlschlangen, die mit fließendem Leitungswasser gespeist werden. Oberhalb des Mittelraumes *MR* befindet sich der Rezipient *R*, der ungefähr die fünffache Flüssigkeitsmenge zu fassen vermochte wie der Mittelraum *MR*, mit dem er durch ein Rohrsystem in Verbindung steht. Das Rohr *FL* dient zur Leitung der Flüssigkeit, das weitere Rohr *NL* zur selbsttätigen Regelung des Luftausgleichs. Das Rohr *FL* geht vom tiefsten Punkte des Rezipienten aus und endigt im Mittelraum etwas unterhalb des Flüssigkeitsspiegels. Das Rohr *NL* wird mit seinem unteren Ende gerade noch von der Flüssigkeit im Mittelraum abgeschlossen, das obere Ende des Rohres *ML* aber führt bis zum oberen Raume des Rezipienten und darf von der Flüssigkeit nicht bedeckt sein. Der im Rohre *NL* angebrachte Hahn *H* bleibt während der ganzen Versuchsdauer geöffnet. Durch diese Anordnung gelingt es, den Spiegel der Flüssigkeit im Mittelraum konstant zu erhalten. Der Mittelraum *MR* und der Rezipient *R* werden mit dem zu konzentrierenden Hydrosol beschickt, während die beiden Elektrodenräume destilliertes Wasser enthalten.

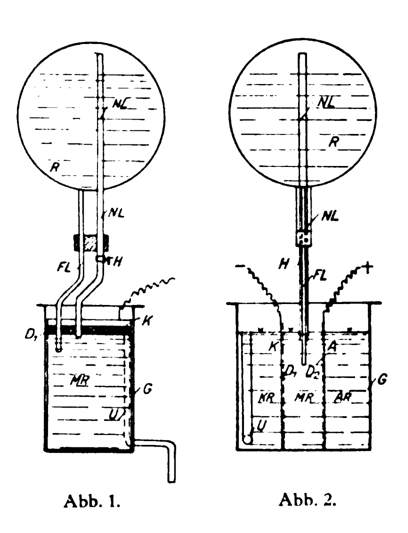


Abb. 1. Abb. 2.

Wesentlich für das Gelingen dieser Versuche ist ebenso für alle anderen elektro-osmotischen bzw. elektro-dialytischen Arbeiten die

Wahl geeigneter Diaphragmen. Bei der Wahl dieser ist neben dem Potential auch die Porengröße derselben zu beachten. Die elektrophoretische Wanderungsrichtung des Wassers wird bekanntlich durch die Reaktion der zu konzentrierenden Flüssigkeit im Mittelraum bestimmt (5). Die $[H]^{\cdot}$ des Mittelraumes bestimmt aber auch gleichzeitig die Ladung und damit auch die Wanderungsrichtung der Teilchen Hydrosols. Wenn die Teilchen des zu konzentrierenden Kolloids durch Zusatz basischer Stoffe eine anodische Wanderungsrichtung erfahren, wählt man als anodisches Diaphragma einen für diese Art von Kolloiden undurchlässigen Stoff, und als kathodisches Diaphragmà einen für Wasser und die abzuscheidenden Kationen gleich gut durchlässigen Stoff, während die umgekehrten Bedingungen zu erfüllen sind, wenn die Wanderung der Kolloidteilchen durch Zusatz von $[H]^{\cdot}$ kathodisch gerichtet ist. Bei unseren Versuchen, die im folgenden noch näher zu beschreiben sind, wurde fast ausnahmslos durch Zusatz von Ammoniak zum zu konzentrierenden Sol eine kathodische Abwanderung des Wassers erzielt; die Eiweißteilchen wanderten zur Anode. Diese Wanderung tritt aber erst dann ein, sobald das Hydrosol elektrolytfrei und der isoelektrische Punkt der dispersen Phase erreicht ist. In diesem Zeitpunkt wurden die Versuche aber abgebrochen. Es sei erwähnt, daß wir uns auch von der Möglichkeit überzeugt haben, durch Zusatz von $H^{\cdot}$ und entsprechend anders gestalteter Diaphragmen eine anodische Abwanderung des Wassers zu erzielen. Der technische Effekt blieb allerdings hinter der Kathaphorese etwas zurück. Als Diaphragmen benutzten wir dementsprechend fast stets an der Anodenseite solche aus chromierter und belichteter Gelatine (6), die für Eiweiß undurchlässig ist; an der Kathodenseite *Membranfilter* bestimmter Porenweite nach *W. Bachmann* und *R. Zsigmondy* (7). Uns standen die damals von der Firma *E. de Haën* als *Bakterienfilter* bezeichneten Größen von X 15 bis X 26 zur Verfügung, deren Porenweite so gewählt war, daß sie Bakterien und größere Teilchen gerade noch zurückhalten, während sie für Eiweißteilchen noch wenigstens teilweise durchlässig sind. Die Membranfilter veränderten sich während der Versuche in keiner Weise, sie konnten wiederholt gebraucht werden, ohne daß je eine merkliche Verstopfung eintrat. Ausgesprochen zerstört wurden sie nur bei starker Abscheidung von Chlor. Noch besser als die gewöhnlichen Filter haben sich solche auf einer Unterlage von Nesselstoff, Schirting oder einem sonstigen vegetabilischen Gewebe bewährt.

Als Strom stand uns elektrischer Gleichstrom von 440 Volt zur Verfügung. Nach Erreichung des gewünschten Konzentrationsgrades des Hydrosols ließen wir den elektrischen Strom noch so lange einwirken, bis die letzten Spuren Elektrolyt aus dem konzentrierten Sol entfernt waren.

Die Ergebnisse einer Reihe von Konzentrationsversuchen mit Eiweißfraktionen bringen wir in der folgenden Tabelle. In Spalte 1 ist die Art des Eiweißhydrosols verzeichnet, in Spalte 2 die Konzentration zu Beginn des Versuchs, in Spalte 3 die zu Ende, in Spalte 4 endlich finden wir den Faktor verzeichnet, der angibt, auf das Wievielfache seiner ursprünglichen Konzentration das Hydrosol konzentriert wurde, und in Spalte 5 die Menge entfernter Flüssigkeit. Die folgende Spalte 6 gibt die mittlere Stromdichte in Ampere pro Quadratzentimeter Elektrodenoberfläche an, Spalte 7 den aufgewandten Energiebedarf in Wattstunden und Spalte 8 die Versuchsdauer.

1	2	3	4	5	6	7	8
Art	Konzentration in Proz. zu Beginn	Konzentration in Proz. zu Ende	Konzentration auf das n-fache	Wasser entfernt in ccm	Amp./qcm mittlere Stromdichte	Wattstunden	Dauer
Albumin	0,75	1,66	2,21	100	0,014	43,8	75′
"	0,83	4,40	5,35	380	0,012	75,0	4h
Albumin-Paraglobulinmischung .	1,40	3,75	2,6	115	0,033	9,0	1
" .	1,79	18,22	10,18	862	0,013	30,8	3
" .	1,2	9,19	7,66	890	0,020	73,0	3
" .	0,48	1,88	3,92	775	0,010	39,0	3
" .	0,39	4,10	10,50	920	0,010	60,0	4
Paraglobulin	3,23	21,07	6,52	675	0,009	54,3	6
Ascites-Flüssigkeit . . .	1,02	7,08	6,91	979	0,014	17,8	2

Aus dieser kleinen Zusammenstellung ersehen wir, daß es möglich ist, die Konzentration von Eiweißlösungen bis auf über das Zehnfache der ursprünglichen zu treiben, und daß die erzielten Effekte unabhängig von der Konzentration und der Art der ursprünglichen Eiweißlösung sind. In der folgenden Zusammenstellung bringen wir die einzelnen Versuchsdaten eines willkürlich herausgegriffenen Versuches.

Versuch 819.

Positives Diaphragma: Chromgelatine auf Wollstoff.
Negatives „ Membranfilter X 16.
Positive Elektrode: Platindrahtnetz, Elektrodenoberfläche je 100 qcm.
Negative „ Messingdrahtnetz, Elektrodenabstand 40 mm.
Beginn: Anodenraum: 200 ccm destilliertes Wasser.
Kathodenraum: 200 „ „ „
Mittelraum: 950 ccm Albumin - Paraglobulinmischung von 1,79 Proz. Eiweiß, und zwar 0,37 Proz. Albumin und 1,42 Proz. Paraglobulin, 0,021 n NH_3.
Spannung: maximale 440 Volt, minimale 100 Volt.
Stromstärke: maximale 0,135 Ampere, minimale 0,032 Ampere.
Temperatur: maximale 29°, minimale 13°.

Versuchsdauer: 3 Stunden.
Entfernte Flüssigkeit: 862 ccm Wasser.
Ende: Anodenraum: 175 ccm Flüssigkeit.
Kathodenraum: 1067 „ „
Mittelraum: 88 „ Albumin-Paraglobulinmischung von 18,22 Proz. Eiweiß, und zwar 3,74 Proz. Albumin und 14,48 Proz. Paraglobulin.

Es hat somit eine Konzentration von 1,79 Proz. auf 18,22 Proz. Eiweiß, das ist auf das 10,18-fache, stattgefunden. Sehr bemerkenswert erscheint uns noch, daß *keine* Umwandlung des Eiweißes stattgefunden hat, und daß das Verhältnis Albumin zu Paraglobulin im Konzentrat das gleiche ist wie in der ursprünglichen Lösung. Die so gewonnenen Eiweißkörper waren praktisch frei von Elektrolyt und hinterließen keinen wägbaren Veraschungsrückstand.

Die von uns damals verwandte Anordnung gestattete es aber nicht nur, hydrophile Kolloide zu konzentrieren, sondern dieselben auch gleichzeitig einem Auswaschprozeß von anderen hochdispersen Kolloiden zu unterwerfen. Wir ließen zu diesem Zwecke durch das zu reinigende Hydrosol verdünnte Elektrolytlösungen hindurchwandern und wuschen es auf diese Art quasi aus, ohne daß hierbei seine Konzentration wesentlich geändert wurde oder es überhaupt seine Formart wechselte. Von den zahlreichen in dieser Richtung ausgeführten Versuchen möchten wir nur einen herausgreifen, der besonders deutlich die beschriebenen Effekte zeigt.

Wir färbten durch Huminsubstanzen eine Gelatinelösung absichtlich tief braunschwarz. Diese dunkle Brühe brachten wir dann in den Mittelraum des vorbeschriebenen Dreizellenapparats, während wir den Rezipienten mit verdünntem (etwa n/100) Ammoniak füllten. Durch Einbau von Heizschlangen hielten wir die Temperatur während des Versuchs auf 60°. Durch einen elektrischen Gleichstrom von einer Stromdichte von 6,5 Ampere pro Quadratmeter bei einer mittleren Spannung von 160 Volt und einer Apparatbelastung von 22 Watt gelang es uns, die im Rezipienten befindliche Flüssigkeit im Laufe von 3 Stunden durch den Mittelraum zu leiten und dadurch einen erheblichen Teil der Huminsubstanzen zu entfernen. Der letzte Rest dieser Verunreinigungen wurde durch eine Wiederholung des Versuchs entfernt, wobei wir aber jetzt verdünnte Salzsäure gleicher Konzentration und eine anaphoretische Wanderung der Spülflüssigkeit erzielten. Als anodisches Diaphragma diente jetzt das Membranfilter, während dickes Pergamentpapier sich an der Kathodenseite befand. Wir erzielten so unter sehr geringen Verlusten eine nahezu farblose, sehr klare, praktisch elektrolytfreie Gelatinelösung guter physikalischer Eigenschaften.

Die Versuche wurden im Winter 1918/19 ausgeführt. Herrn Professor Dr. *W. G. Ruppel* möchten wir auch heute an dieser Stelle noch für mancherlei Anregungen in Ehren gedenken.

Zusammenfassung.

Es wird eine Methode angegeben, die es gestattet, Eiweißlösungen und andere hydrophile Kolloide mit Hilfe des elektrischen Stromes weitgehendst zu konzentrieren. Diese Konzentrationsmethode ist mit einer praktisch vollkommenen Befreiung der Kolloide von Elektrolyten verbunden.

Literatur.

1) Vgl. z. B. *Fritz Foerster*, Elektrochemie wässeriger Lösungen, 3. Aufl., 1922; ferner Graf *B. Schwerin*, Zeitschr. f. Elektrochem. **9**, 730, 1903; D. R.-P. 124509 vom 4. April 1900. — 2) *H. Bechhold* und *A. Rosenberg*, diese Zeitschr. **157**, 85, 1925; Franz. Pat. 584414 vom 25. Juni 1924; Engl. Pat. 232077 vom 26. Juni 1924 (16. April 1925) (beanspruchte deutsche Priorität vom 26. Juni 1923). — 3) Ausführlich besprochen durch *P. H. Prausnitz*, Zeitschr. f. Elektrochem. **28**, 29, 1922. — 4) Vgl. *W. G. Ruppel*, Ber. d. deutsch. pharm. Ges. **30**, 314, 1922; *J. Reitstötter*, Kolloid-Zeitschr. **32**, 28, 1923. — 5) Über diese Versuche hat bereits *P. H. Prausnitz* berichtet, s. Kolloid-Zeitschr. **29**, 6, 1921. — 6) D. R.-P. 71378 (1893), ferner *R. Stern*, diese Zeitschr. **144**, 121, 1924; vgl. hierzu auch die neueren Arbeiten von *H. Freundlich* und *L. F. Loeb*, ebendaselbst **150**, 522, 1924; *Wo. Pauli*, ebendaselbst **152**, 355, 1924. — 7) *W. Bachmann* und *R. Zsigmondy*, Zeitschr. f. anorgan. Chem. **102**, 119, 1918; s. auch *A. Schoep*, Kolloid-Zeitschr. **8**, 80, 1911; D. R.-P. 329060 (1916), 329117 (1916), 323185 (1917).

Studien über die Beziehungen zwischen dem chemischen Aufbau und dem Geschmack süß schmeckender Stoffe (Zuckerarten, Alkohole).

Von

Kurt Täufel.

(Aus der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie in München.)

(Eingegangen am 28. August 1925.)

Die Vorstellungen, daß gesetzmäßige Beziehungen zwischen den Eigenschaften der Stoffe und ihrem chemischen Aufbau bestehen, gründen sich auf experimentelle Erfahrungen und theoretische Überlegungen. Die in dieser Richtung erzielten Erfolge sind bisher noch gering, da sich der Bearbeitung dieser Fragen erhebliche Schwierigkeiten entgegenstellen.

Dies trifft insbesondere für die *Geschmacksstoffe* zu. Den von *W. Sternberg*[1]), *G. Cohn*[2]) sowie *E. Oertly* und *R. G. Myers*[3]) u. a. entwickelten Anschauungen liegt der Leitgedanke zugrunde, Zusammenhänge zwischen dem *süßen Geschmack* und der *chemischen Konstitution* aufzufinden. Eine solche Betrachtungsweise erscheint jedoch unvollständig und einseitig, worauf letzthin *H. Thoms*[4]) nachdrücklich hingewiesen hat. Es ist erforderlich, auch den Zustand des Stoffes in Lösung näher kennenzulernen, z. B. seine *Hydratation* und seine *elektrolytische Dissoziation*, da der Geschmack eines Stoffes jeweils in Lösung ermittelt wird. Dieser Tatsache hat man z. B. bei Untersuchungen über die *saure*[5]), die *salzige* und die *laugenhafte*[6]) *Geschmacksempfindung* mit gutem Erfolg Rechnung getragen.

---

[1]) Das süßende Prinzip. Verh. d. Ges. deutscher Naturforscher und Ärzte 1902, Teil II, 2. Hälfte; Dubois' Arch. f. Physiol. 1898, S. 451; 1899, S. 367; Zeitschr. d. Ver. f. Rübenzucker-Industrie 1899, S. 376.

[2]) Geschmack und Konstitution bei organischen Verbindungen. Stuttgart 1915. Die organischen Geschmacksstoffe. Berlin 1914.

[3]) Journ. Amer. Chem. Soc. **41**, 855, 1919.

[4]) Zeitschr. f. angew. Chem. **37**, 809, 1924.

[5]) *Th. Paul*, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **49**, 2124, 1916; Zeitschr. f. Elektrochem. **28**, 435, 1922.

[6]) *R. Höber* und *Fr. Kiesow*, Zeitschr. f. physik. Chem. **27**, 601, 1898.

Einen Versuch, den Einfluß der elektrolytischen Dissoziation auf den süßen Geschmack des Saccharins und des Dulcins festzustellen, unternehmen *O. J. Magidson* und *S. W. Gorbatschow*[1]) sowie *K. Täufel* und *C. Wagner*[2]). Um einen tieferen Einblick in die Zusammenhänge zwischen süßem Geschmack und chemischem Aufbau zu gewinnen, erscheint es weiterhin erforderlich, mehr als bisher auch die quantitative Seite des Problems zu berücksichtigen, d. h. die Stärke des Geschmacks eines gelösten Stoffes in Abhängigkeit von seinem chemischen Aufbau zu betrachten. Die nachstehend beschriebenen Untersuchungen bewegen sich in dieser Richtung.

Zur Ermittlung der Intensität des Geschmacks einer Lösung, im besonderen zur Ermittlung der Süßkraft süß schmeckender Stoffe, fanden bisher im wesentlichen zwei Verfahren Anwendung:

1. Die von *C. Fahlberg*[3]) ausgearbeitete und nach ihm benannte Methode,
2. die amtliche österreichische Anweisung[4]) zur Ermittlung der Süßkraft (Süßungsgrad) künstlicher Süßstoffe.

An die Genauigkeit dieser beiden Verfahren, die vorzugsweise praktische Ziele verfolgen, können keine besonderen Anforderungen gestellt werden, da nähere Angaben über die Versuchsbedingungen fehlen, die besonders bei Geschmacksprüfungen den Ausfall der Urteile tiefgehend beeinflussen und leicht Quellen konstanter und variabler Fehler werden können. Bei den hier beschriebenen Versuchen wurde daher die der experimentellen Psychologie entlehnte *Konstanzmethode* benutzt. Sie ist hinsichtlich der Beobachtungsweise und Berechnungsart theoretisch sichergestellt und liefert gut reproduzierbare Ergebnisse. Insbesondere hat sie sich auch bei Versuchen zur Messung der Intensität sauer[5]) schmeckender Stoffe bewährt. Bezüglich der Versuchstechnik und der rechnerischen Auswertung der Ergebnisse muß auf die von *R. Pauli*[6]) in dieser Zeitschrift veröffentlichte ausführliche Abhandlung verwiesen werden. Unter Benutzung des Konstanzverfahrens konnte seinerzeit *Th. Paul*[7]) mit seinen Mitarbeitern für eine Reihe von Zuckerarten und anderen süß schmeckenden Stoffen

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **56**, 1810, 1923.

[2]) Ebendaselbst **58**, 909, 1925.

[3]) 25 Jahre im Dienste der Saccharinindustrie. Bericht des V. Internationalen Kongresses für angewandte Chemie, Berlin 1903.

[4]) Verordnung des Finanzministers im Einvernehmen mit den beteiligten Ministerien zur Vollziehung der Kaiserlichen Verordnung vom 25. Januar 1917, betreffend die Einführung eines Monopols für künstliche Süßstoffe. Vom 12. Februar 1917 (Reichsgesetzblatt, S. 143, § 10 der Verordnung).

[5]) *Th. Paul*, Zeitschr. f. Elektrochem. **28**, 435, 1922.

[6]) Diese Zeitschr. **125**, 97, 1921.

[7]) Zeitschr. f. Elektrochem. **27**, 539, 1921.

die Süßungsgrade[1]) bestimmen. Diese Versuche sind inzwischen fortgesetzt und erweitert worden. Einen Überblick über die bisher geprüften Stoffe gibt die Tabelle I.

Tabelle I.
Süßungsgrad (SG) von Zuckerarten und anderen süß schmeckenden Stoffen (bezogen auf Zucker gleich 1).

Nr.	Bezeichnung der Zuckerarten	Formel	Süßungsgrad (SG)	Molekularer Süßungsgrad (MSG)
1	Glykose	$C_6H_{12}O_6$	0,52	0,27
2	Fructose	$C_6H_{12}O_6$	1,03	0,54
3	Galaktose	$C_6H_{12}O_6$	0,27	0,14
4	Maltose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	0,35	0,35
5	Lactose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	0,28	0,28
6	Saccharose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	1,00	1,00
7	Glykol	$C_2H_6O_2$	0,49	0,09
8	Glycerin	$C_3H_8O_3$	0,49	0,13
9	Erythrit	$C_4H_{10}O_4$	0,45	0,16
10	Mannit	$C_6H_{14}O_6$	0,45	0,24
11	Sorbit	$C_6H_{14}O_6$	0,48	0,26
12	Dulcit	$C_6H_{14}O_6$	0,41	0,22
13	Stärkesirup (mit etwa 78 Proz. Trockensubstanz)	—	0,26	—

Es geht daraus hervor, daß der molekulare Süßungsgrad der untersuchten Verbindungen jeweils kleiner ist als derjenige der Saccharose. Im Gegensatz zu den künstlichen Süßstoffen[2]) Saccharin und Dulcin wurde bei den natürlichen Süßstoffen eine Änderung des Süßungsgrades bei wechselnder Konzentration der Lösungen nicht beobachtet.

Th. Paul[3]) hat durch Versuche festgestellt, daß sich in Gemischen der süße Geschmack von Saccharin und Dulcin zu demjenigen der Saccharose addiert. Das gleiche gilt auch für *Gemische aus Sacchariden*, wie die Tabelle II zeigt. Es wurden äquimolekulare Gemische aus Glykose und Fructose hergestellt und auf die Intensität des süßen Geschmackes geprüft. Die durch den Versuch ermittelten Intensitäten des süßen Geschmackes stimmen befriedigend mit denjenigen überein, die durch Rechnung aus den Süßungsgraden der Einzelbestandteile erhalten werden (vgl. Spalten 5 und 6 der Tabelle II).

[1]) Der *Süßungsgrad* (SG) ist die Zahl, die angibt, wieviel Gramm Zucker (Rübenzuckerraffinade, Saccharose) in einem bestimmten Volumen Wasser gelöst werden müssen, damit die Lösung gerade so süß schmeckt wie die Lösung von 1 g des süß schmeckenden Stoffes in dem gleichen Volumen Wasser. Der Süßungsgrad des Zuckers ist hierbei gleich 1 gesetzt. Der *molekulare Süßungsgrad* (MSG) ist der Süßungsgrad, bezogen auf molekulare Verhältnisse.

[2]) *Th. Paul*, Zeitschr. f. Elektrochem. 28, 435. 1922.

[3]) l. c.

Tabelle II.
Intensitäten des süßen Geschmackes von Gemischen aus Glykose und Fructose.

1	2	3	4	5	6	7
Glykose		Fructose		Süßungsgrad des Gemisches, ausgedrückt in g Rohrzucker in 1 Liter		Das Gemisch (Spalten 1 + 3) entspricht g Rohrzucker in 1 Liter
g/Liter	entspricht Rohrzucker g/Liter	g/Liter	entspricht Rohrzucker g/Liter	berechnet (Spalten 2 + 4)	durch den Versuch gefunden	
20	10,4	20	20,6	31	31,3	38
40	20,8	40	41,2	62	61,9	76

Unter Benutzung dieser Feststellung kann man nun die Frage aufwerfen, in welchem Verhältnis der molekulare Süßungsgrad eines Disaccharids zu demjenigen seiner einfachen Bausteine steht. Für die *Saccharose* ergibt sich dann:

1 Mol Glykose + 1 Mol Fructose = 1 Mol Saccharose + Wasser
(MSG = 0,27) (MSG = 0,54) (MSG additiv ber. = 0,81)
(MSG beobachtet = 1,00)

Bei der Verbindung von Glykose und Fructose zu Saccharose wird somit die Intensität des süßen Geschmacks nicht unbeträchtlich gesteigert (etwa 25 Proz.); bei der Hydrolyse wird der Süßungsgrad dementsprechend vermindert. Dies ist praktisch von Interesse. Bei der Herstellung von Kunsthonig durch Inversion von Rohrzucker geht rund ein Fünftel des süßen Geschmacks verloren. Diese Tatsache verdient deshalb hervorgehoben zu werden, da der Rohrzucker in Gestalt von Kunsthonig im wesentlichen als Würzstoff genossen wird, die Verminderung des Süßungsgrades also einen Verlust an seiner wichtigsten Eigenschaft darstellt.

Anders liegen die Verhältnisse bei den beiden anderen Disacchariden, der *Maltose* und der *Lactose*:

1 Mol Glykose + 1 Mol Glykose = 1 Mol Maltose + Wasser
(MSG = 0,27) (MSG = 0,27) (MSG additiv ber. = 0,54)
(MSG beobachtet = 0,35)

1 Mol Glykose + 1 Mol Galaktose = 1 Mol Lactose + Wasser
(MSG = 0,27) (MSG = 0,14) (MSG additiv ber. = 0,41)
(MSG beobachtet = 0,28)

Der Zusammentritt der entsprechenden Monosaccharide zum Malz- bzw. zum Milchzucker führt demnach zu einem Rückgang des Süßungsgrades. Auch bei der unter Abspaltung von zwei Molekeln Wasser erfolgenden chemischen Verbindung von je einer Molekel Glykose, Galaktose und Fructose tritt eine Verringerung des Süßungsgrades ein, und zwar so weitgehend, daß das entstehende Trisaccharid, die

Raffinose, nicht mehr süß schmeckt, während ihr molekularer Süßungsgrad sich additiv zu 0,95 ergeben würde.

Diese Feststellungen stehen qualitativ im Einklang mit der von *W. Sternberg*[1]) geäußerten Anschauung, daß eine Verminderung der Hydroxylgruppen einer organischen süß schmeckenden Verbindung gegenüber der Zahl der Alkylgruppen, z. B. durch Abspaltung von Wasser, die Intensität des süßen Geschmacks verringert. Bei der Saccharose jedoch trifft diese Regelmäßigkeit nicht zu. Dies weist darauf hin, daß die Konstitution bzw. die Verknüpfung der Bausteine der Maltose, Lactose und Raffinose anderer Art sind als bei der Saccharose. Auch andere experimentelle Tatsachen bestätigen diese Folgerung. Saccharose wird durch verdünnte Säuren etwa 1000mal so rasch hydrolysiert wie Milch- und Malzzucker[2]). Man führt dies darauf zurück, daß im Fructoseteil des Rohr- oder Rübenzuckers eine unbeständige Sauerstoffbrücke vorhanden ist, die sich bei der Hydrolyse in die beständigere Sauerstoffbrücke der freien Fructose[3]) umlagert. Charakteristisch ist ferner für die Saccharose, daß sie im Gegensatz zu Maltose und Lactose *Fehling*sche Lösung nicht reduziert.

Betrachtet man die Reihe der untersuchten zwei- bis sechswertigen *Alkohole*, so beobachtet man ein allmähliches Ansteigen des molekularen Süßungsgrades mit der Wertigkeit (vgl. Tabelle I). Die Annahme von *G. Cohn*[4]), daß bei den sechswertigen Alkoholen eine Abnahme der Intensität des süßen Geschmacks gegenüber den niedrigerwertigen eingetreten ist, trifft nicht zu. Wie sich in dieser Beziehung die siebenwertigen Alkohole verhalten, konnte bisher experimentell noch nicht festgestellt werden wegen der schwierigen Beschaffung dieser Stoffe, die bei Geschmacksversuchen jeweils in größeren Mengen benötigt werden.

Bei den drei stereoisomeren Hexiten *Dulcit*, *Sorbit* und *Mannit* drückt sich in geringem Maße die Abhängigkeit der Intensität des Geschmacks vom strukturellen Bau der Molekel aus. Vergleicht man sie mit den ihnen entsprechenden Hexosen, so findet die Anschauung von *G. Cohn*[5]), daß Aldosen im allgemeinen süßer schmecken als die Alkohole, keine Bestätigung. Sorbit und Glykose stimmen hinsichtlich des molekularen Süßungsgrades etwa überein, Galaktose ist weniger süß als Dulcit.

[1]) l. c.
[2]) *E. F. Armstrong* und *R. J. Caldwell*, Proc. Roy. Soc., Ser. B., **73**, 526, 1904; **74**, 195, 1905.
[3]) Vgl. *H. Pringsheim*, Die Polysaccharide. Berlin 1923.
[4]) Die organischen Geschmacksstoffe, S. 224. Berlin 1914.
[5]) l. c., S. 219.

Die vorstehenden quantitativen Betrachtungen über die Zusammenhänge zwischen dem süßen Geschmack und dem chemischen Aufbau einer Reihe natürlicher Süßstoffe lassen erkennen, daß unsere Kenntnisse auf diesem Gebiet noch sehr bescheiden sind. Dies ist bei der Unzulänglichkeit und Lückenhaftigkeit des vorliegenden Tatsachenmaterials sowie der Kompliziertheit der Verhältnisse nicht verwunderlich. Hierzu kommt, daß sich süß schmeckende Verbindungen unter den verschiedensten chemischen Stoffklassen finden. Es fällt schwer, die Mannigfaltigkeit der Tatsachen unter einheitlichen Gesichtspunkten zu ordnen. Auf dem Gebiete der sauren Geschmacksempfindung hat man erkannt, daß nur solche Stoffe sauer schmecken, die in wässeriger Lösung Wasserstoffion abspalten. Wenn es gelingen würde, eine der süßen Geschmacksempfindung zugrunde liegende allgemeine Ursache aufzufinden, wäre ein wesentlicher Fortschritt erzielt. Es dürfte sich somit als zweckmäßig erweisen, zunächst nach physikalisch-chemischen Eigenschaften zu suchen, die ähnlich wie bei der sauren Geschmacksempfindung für die Erregung des süßen Geschmacks allgemeine Bedeutung besitzen, und dann erst diese physikalisch-chemischen Eigenschaften, und damit den Geschmack der Stoffe, in ihrer Beziehung zum chemischen Aufbau zu studieren. Notwendige Voraussetzung für eine solche Betrachtungsweise ist jedoch die nähere Kenntnis des physiologischen Vorganges der süßen Geschmacksempfindung.

Studien über Gewebsatmung.

II. Mitteilung[1]):
Die Atmung der überlebenden Warmblüterorgane.

Von

E. Grafe, H. Reinwein und Singer.

(Aus der medizinischen Universitätspoliklinik Rostock.)

(Eingegangen am 28. August 1925.)

Unsere Kenntnisse vom Gaswechsel des Gesamtorganismus, der seit den klassischen Versuchen französischer (*Bert*, *Régnard*, *Reignault-Reiset* u. a.) und deutscher Physiologen, wie *Voit-Pettenkofer*, *Pflüger*, *Rubner*, *Zuntz* u. a. zunächst nur vereinzelt, seit einem Dezennium auf breitester Grundlage untersucht wurde, ist, wenn man von manchen experimentellen Fragestellungen absieht, auf zahlreichen Gebieten bereits zu einem gewissen Abschluß gekommen [Zusammenfassendes darüber neuerdings bei *Loewy* [2]) und *Grafe*[3])].

Es hat eine zum Teil gewaltige Anhäufung von klinischem und experimentellem Material, das zum Teil aber nur von statistischem Interesse ist, stattgefunden, und die Entwicklung dieses besonders wichtigen Forschungszweiges der normalen und pathologischen Physiologie drängt immer mehr dazu, die gewonnenen Resultate genetisch zu analysieren. Da der Stoffwechsel des Gesamtorganismus nur die Resultante des Partialstoffwechsels der einzelnen Organe und Organsysteme ist, der seinerseits wieder weitgehend von den beiden großen Regulationssystemen des Warmblüters, Inkretsystem und Zentralnervensystem beeinflußt wird, so müssen vor

---

[1]) Die wichtigsten Tatsachen und Tabellen dieser Arbeit wurden auf der zweiten Tagung der Norddeutschen Vereinigung für innere Medizin in Hamburg am 31. Januar 1925 mitgeteilt. Vgl. ferner *E. Grafe*, Deutsche med. Wochenschr. 1925, Nr. 16, und Die nervöse Regulation des Stoffwechsels in Oppenheimers Handbuch der Biochemie **9**, Teil X. 1925.

[2]) *A. Loewy*, Die Gase des Körpers und der Gaswechsel. Oppenheimers Handb. d. Biochem., 2. Aufl., **6**, 7. Hauptteil, 1923.

[3]) *E. Grafe*, Die pathologische Physiologie des Gesamtstoff- und Kraftwechsels bei der Ernährung des Menschen. Bergmann 1923.

allem die einzelnen Quellen der Wärmebildung im Körper erfaßt und studiert werden. Dies Problem hat schon *Spallanzani*[1]) erkannt und in Angriff genommen, aber die außerordentlichen technischen Schwierigkeiten für seine Bewältigung haben es nach zahlreichen Anläufen immer wieder in den Hintergrund treten lassen. Zwei prinzipiell verschiedene Dinge sind von vornherein zu trennen, einmal das Verhalten des lebenden Organs in seinen physiologischen Verbindungen im Organismus und ferner die Eigenatmung des überlebenden, der Herrschaft der Regulationssysteme entzogenen Gewebes. Im ersteren Falle haben wir den Gesamtwert der Partialatmung eines Organs vor uns, der aus den drei Faktoren Eigenatmung, Inkreteinfluß und Nerveneinfluß sich zusammensetzt, im letzteren Falle nur isoliert den Gewebsfaktor. *Barcroft*[2]) und seine Mitarbeiter haben mit ihrer genialen Differenzbestimmungsmethode von O_2 und CO_2 im zuführenden und abführenden Blute ein großes Beobachtungsmaterial gewonnen, und auf ähnlichen oder prinzipiell anderen Wegen sind andere Autoren, wie *Loewy, Tangl, Verzár* u. a. [Literatur bei *Loewy*[2])] vorgegangen. So ist wenigstens für manche Organe, wie Herz, Leber, Muskulatur, die Beteiligung am Gesamtumsatz einigermaßen bekannt [vgl. die sehr instruktive Zusammenstellung von *A. Loewy*[3])]. Ein Nachteil vor allem für die vergleichend physiologischen und pathologischen Studien ist, daß fast alle Versuche nur auf mittelgroße Versuchstiere (Katze und Hund) sich beziehen, während solche an ganz kleinen und ganz großen Tieren wegen ihrer außerordentlichen Schwierigkeiten fehlen. Hinsichtlich der Fragestellung und der Methodik einfacher erschienen die Untersuchungen an überlebenden Organen. Sie sind daher schon sehr früh in Angriff genommen worden. *Spallanzani* [1807[4])] scheint der erste gewesen zu sein, und ihm folgen nach langer Pause *P. Bert, Régnard, Rubner, v. Frey, Tissot, Quinquaud, Lussana* [Zusammenfassendes bei *Batelli* und *Stern*[5])]. In allen diesen älteren Versuchen war die Atmung im ganzen sehr gering und unkontrollierbar wechselnd, selbst in der Hand des gleichen Untersuchers. Die Ursachen dafür sind wohl in der wechselnden Stärke der Sauerstoffzufuhr und der dadurch bedingten mehr oder minder starken Schädigung der Vitalität zu suchen.

Eine wesentliche Verbesserung der Methodik erzielten *Batelli* und *Stern*[5]), indem sie große Mengen Organbrei mit Luft oder Sauerstoff allein meist bei 38° 1 Stunde lang in Blut oder Salzlösungen schüttelten und dann den Sauerstoffverbrauch sowie die Kohlensäurebildung gasanalytisch bestimmten. Sie stellten mit dieser Methodik außerordentlich umfassende und vielseitig variierte Versuche an, die sie zur Zerlegung der Gewebsatmung in zwei verschiedene Prozesse, die sogenannte Hauptatmung und die sogenannte akzessorische Atmung und zur Entdeckung des sogenannten

[1]) *Senebier*, Rapports de l'air avec les êtres organisés tirés des journaux d'observations et d'experiences de *L. Spallanzani*. 2, Mem. 11 und 12. Genève 1807.

[2]) Zus. bei *J. Barcroft*, Zur Lehre vom Blutgaswechsel. Erg. d. Phys. 7, 731, 1908.

[3]) *A. Loewy*, Der Gaswechsel der Organe und Gewebe. Oppenheimers Handb. d. Biochem. 8, 9. Hauptteil, S. 1, 1923.

[4]) l. c.

[5]) *M. F. Batelli* und *I. Stern*, Journ. de phys. et path. gen. Nr. 1 und 3, 1907; weitere Literatur bei *Loewy*, l. c.

Pneïns, des Aktivators der Hauptatmung, führten. Auf diese theoretischen Schlußfolgerungen soll an dieser Stelle nicht eingegangen werden, zumal *Harden* und *Maclean*[1]) sie nicht bestätigen konnten. In unserem Zusammenhange interessieren nur die absoluten Werte des Sauerstoffverbrauchs, die sogenannte Hauptatmung von *Batelli* und *Stern*.

Die wichtigsten Durchschnittszahlen hat *Loewy*[2]) in folgender kleinen Tabelle zusammengestellt. Die Berechnung in Kubikzentimetern O_2 gilt pro Kilogramm Organ und bei 38°.

Niere	81 ccm	Hirn	27 ccm
Herz	65 „	Pankreas	25 „
Skelettmuskel	61 „	Thyreoidea	8,7 „
Leber	59 „	Milz	6,3 „

Sieht man die Originaltabellen durch, so sind die Schwankungen der Einzelversuche, auch bei vollkommen gleicher Versuchsanordnung außerordentlich groß (bis zu mehreren Hunderten von Prozenten). Retrospektiv vom Standpunkt unserer eigenen Untersuchungen aus läßt sich sagen, daß manche dieser Zahlen richtig sind, aber man kann ihnen von vornherein nicht ansehen, welches die richtigen sind.

Dazu kommt, daß *Harden* und *Maclean*[2]) mit fast der gleichen Methode ganz andere, meist vielfach niedrigere Zahlen als *Batelli* und *Stern* gefunden haben, so daß sie geneigt sind, die hohen Werte der Genfer Forscher auf Bakterienwirkung zurückzuführen, eine Annahme, die sicher falsch ist. Wichtig im Hinblick auf unsere eigenen Resultate ist die Feststellung der englischen Autoren, daß jedes Organ Schwankungen in etwa den gleichen Grenzen aufweist, allerdings betragen auch hier die Differenzen Hunderte von Prozenten.

Es ist klar, daß mit diesen wechselnden und zum Teil ganz konträren Angaben die quantitativen Verhältnisse der Gewebsatmung in keiner Weise genügend geklärt waren, auch einzelne Beobachtungen von *Pintacuda*, *Pitini* und *Fernandez* sowie *Lussana* [Literatur bei *Loewy*[3])] haben nicht weiter geführt, Mikrorespirationsversuche von *Thunberg*, *Winterstein*, *Abderhalden* u. a. [Literatur bei *Loewy*[3])] haben nur für einzelne Objekte und Fragen, wie z. B. das Nervensystem, wertvolles Material geliefert.

Erst in den letzten Jahren sind zwei neue Methoden angegeben worden, die geeignet scheinen, das wichtige, immer mehr drängende Problem der Gewebsatmung systematisch in Angriff zu nehmen, die vitalen Färbungsmethoden von *Thunberg* (mit Methylenblau) und *Lipschitz* (mit Dinitrobenzol) sowie die Mikrorespirationsmethode von *Warburg*[4]) unter Benutzung der *Barcroft*schen Manometer. Gegen die ersteren Methoden erheben sich mancherlei Bedenken [vgl. z. B. *Water-*

---

[1]) *A. Harden* und *H. Maclean*, Journ. of phys. **43**, 34, 1911.
[2]) l. c., S. 25.
[3]) l. c.
[4]) *O. Warburg*, diese Zeitschr. **142**, 317, 1923; **152**, 51, 1924.

mann und *Kalff*[1])]. Einmal ist die Präparation der Gewebe recht unphysiologisch, zweitens werden keine absoluten, sondern nur Vergleichszahlen erhalten, ferner werden körperfremde, zum Teil sogar giftige Substanzen verwandt und schließlich vermag die Reaktionsgeschwindigkeit der Zersetzung von Salpetersäure und anderen Substanzen nichts Sicheres über das Verhalten der Gewebe gegenüber dem hier allein interessierenden Verhalten des molaren Sauerstoffs auszusagen. Andererseits hat die allerdings weit kompliziertere Methode von *Warburg* den außerordentlichen Vorteil, daß durch die Verwendung von ganz dünnen Gewebsschnitten und Schütteln mit reinem Sauerstoff die Garantie einer maximalen Sättigkeit mit diesem Gase gegeben ist und so der große Fehler, an dem mehr oder weniger alle früheren Versuche kranken, ausgeschlossen wird. Schon die ursprüngliche *Barcroft*sche Methode hatte sich dem einen von uns [2]) für das Studium der Atmung isolierter Zellen (Leucocyten) sehr bewährt. Aus allen diesen Erwägungen heraus benutzten wir die *Warburg*sche Methode als die zurzeit vollkommenste. In der Durchführung lehnten wir uns eng an die Angaben von *Warburg* an, so daß bezüglich der Durchführung und Berechnung der Versuche auf seine verschiedenen Mitteilungen sowie die Ausführungen in der ersten Mitteilung von *Büchner* und *Grafe* [3]) verwiesen werden kann. Da für die vorliegenden Versuche nur die Messung des Sauerstoffverbrauchs in Betracht kam, so arbeiteten wir vorwiegend mit der alten Methode und kleinen Rezipienten.

Bemerkt sei, daß die Technik keineswegs einfach ist, und daß es langer Übung bedarf, bis tadellos übereinstimmende Werte in Reihenversuchen erhalten werden. Ist aber die nötige Fertigkeit erreicht, so arbeitet die Methode mit außerordentlicher Genauigkeit, und die Versager werden immer seltener. Für die Anfertigung der Schnitte, den schwierigsten Punkt, empfehlen wir ein feines Doppelmikrotommesser, bei dem die Schnittdicke außerordentlich fein und gleichmäßig eingestellt werden kann. Die Messer müssen äußerst scharf geschliffen sein, so daß bei vorsichtiger langer Schnittführung die Gefahr des Druckes und der Gewebsquetschung auf ein Minimum herabgemindert ist. Um den Faktor der Ernährung und des Wachstums möglichst auszuschließen, wurden nur ausgewachsene, 24 Stunden hungernde Tiere verwandt und diese sofort frisch verarbeitet, nur bei einzelnen Schlachthoftieren, wie Schaf, Kalb und Ochse, ließ es sich durch den Transport vom Schlachthof nicht verhindern, daß zwischen Entnahme und Verarbeitung etwa 10 bis 15 Minuten lagen.

Über die ersten, hauptsächlich an Maus und Frosch angestellten Versuche, wurde früher schon gemeinsam mit *Büchner* berichtet[4]). Sie

---

[1]) *N. Watermann* und *Kalff*, diese Zeitschr. **135**, 174, 1923.

[2]) *E. Grafe*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **102**, 406, 1912.

[3]) Ebendaselbst **144**, 67, 1924.

[4]) *E. Grafe*, Kongreß für innere Medizin, Kissingen 1924; Verh. S. 74; *Büchner* und *Grafe*, Klin. Wochenschr. **3**, 986, 1924.

ergaben relativ sehr geringe Schwankungen des O_2-Verbrauchs zwischen den untersuchten Organen des gleichen Tieres (Leber, Muskel, Herz, Lunge, Milz, Darm, Niere) sowie der verschiedenen Tierarten (Frosch, Maus, Mensch, Kaninchen). Der Mittelwert lag bei rund 0,2 ccm O_2 pro 1 g Trockengewicht und 1 Minute bei 40^0. Bei den enorm großen Unterschieden in der Atmung der lebenden Gewebe im Körper, wie sie vor allem durch *Barcroft* und seine Mitarbeiter festgestellt sind einerseits, sowie der Oxydationsgröße der verschiedenen Tierarten, bezogen auf die gleiche Einheit andererseits, war diese Uniformität des Protoplasmas überraschend. Da hier möglicherweise ein wichtiges allgemeines Organisationsprinzip vorlag, schien es wünschenswert, die damaligen nicht sehr zahlreichen Versuche auf eine möglichst breite Basis zu stellen. Ohne unsere ausführliche Arbeit abzuwarten, hat *Wels*[1]) zu unserer Arbeitshypothese Stellung genommen, indem er die von uns ursprünglich noch nicht bestimmte Oxydationsgröße für Leber, Milz und Niere bei Meerschweinchen, Kaninchen, Schaf und Huhn feststellte.

Während die Werte für die Niere sich weitgehend mit unseren Zahlen für die Maus deckten (Schwankungen von 0,192 bis 0,248) und auch, mit Ausnahme der Schafmilz, die Milzwerte nicht erheblich voneinander differierten, fielen außer beim Huhn die Werte für die Leber erheblich aus der Reihe. Trotz dieser zum Teil weitgehenden Übereinstimmung lehnt er die von *Büchner* und *Grafe* aufgestellte Arbeitshypothese als unbewiesen ab, verkennt dabei aber völlig den springenden Punkt unserer Fragestellung: wie kommt es, daß die Gewebsatmung von ganz kleinen und ganz großen Tieren sich nur so wenig voneinander unterscheidet, während die Atmung des lebenden Gesamttieres so gewaltige Unterschiede aufweist? Was wollen — die Richtigkeit von *Wels* Zahlen angenommen — Differenzen von 100 bis 200 Proz. besagen gegenüber den zehnfach größeren beim lebenden Gesamttier? Das läßt sich eben nicht mit der Biontentheorie von *Rubner*[2]) vereinigen, deren Richtigkeit *Wels* ohne weiteres als bewiesen annimmt.

Auf die Zahlen von *Wels*[3]) im einzelnen soll bei der Besprechung der Tabelle I näher eingegangen werden.

Inzwischen ist noch ein weiteres Zahlenmaterial in Arbeiten von *O. Warburg*, *K. Posener* und *E. Negelein*[4]) von *O. Meyerhof* und *Himwich*[5]) sowie kürzlich nach Abschluß unserer Versuche von *O. Meyerhof*, *Lohmann* und *R. Meyer*[6]) mitgeteilt worden.

---

[1]) *P. Wels*, Klin. Wochenschr. **3**, 1663, 1924.
[2]) *M. Rubner*, Kraft und Stoff im Haushalt der Natur. Leipzig 1909.
[3]) l. c.
[4]) Diese Zeitschr. **152**, 309, 1924.
[5]) Pflügers Arch. **205**, 415, 1924.
[6]) Ebendaselbst **157**, 459, 1925.

Das gesamte uns zugängige und mit unseren Versuchsbedingungen vergleichbare, bisher mit der *Warburg*schen Methode gewonnene Untersuchungsmaterial ist in Tabelle I geordnet nach Tierart und Organart zusammengestellt. Unsere eigenen Werte, welche die Durchschnittszahlen sehr zahlreicher, gut übereinstimmender Versuche darstellen, sind nicht eingeklammert, die Zahlen von *Warburg* und seinen Mitarbeitern tragen eckige Klammern, die von *Wels* runde, die von *Meyerhof* und seinen Schülern runde und eckige Klammern. Ferner sind für das Gehirn noch die mit der *Winterstein*schen Methode von *Winterstein* und *Baß*[1]) gewonnenen Zahlen, berechnet auf Trockensubstanz und 38° in doppelter runder Klammer beigefügt. Die mit einem * versehenen Zahlen verdanken wir Herrn Dr. *Balzer*, der über die Gehirnuntersuchungen besonders berichten wird. Da schon die mit derselben Methode gewonnenen Einzelzahlen für das gleiche Tierorgan zum Teil in der Hand desselben Arbeiters (vgl. z. B. das Zahlenmaterial von *Meyerhof* und seinen Mitarbeitern) sehr erhebliche, ± 50 Proz. betragende Unterschiede aufweisen können, so erschien es uns nicht zweckmäßig, die Tabelle noch mit Ergebnissen methodisch ganz anders angelegter Versuche zu belasten. Tatsächlich liegen die durch andere Methoden gewonnenen Zahlen auch fast alle mehr oder weniger erheblich niedriger, was wohl hauptsächlich mit der ungenügenden Sauerstoffversorgung zusammenhängt. In der untersten Reihe sind die am lebenden Tiere gewonnenen Zahlen für die einzelnen Organe, berechnet aus der *Loewy*schen[2]) Tabelle für 1 g Trockensubstanz und 38°, zum Vergleich angeführt.

Überblickt man das Zahlenmaterial hinsichtlich der einzelnen Organe, so sind die Streuungen zweifellos größer als in den ersten Versuchen mit *Büchner*[3]). Wir haben das damals auch vorausgesagt, aber nur ein Organ fällt bei den meisten Tieren, wenn auch keineswegs bei allen, nach den Versuchen von *Warburg* und uns, nicht aber nach denen von *Wels*, stärker aus der Reihe, nämlich die Niere, die sich fast überall durch die höchsten Werte auszeichnet, Zahlen, die zum Teil (wie bei Ratte, Meerschweinchen, Kaninchen und Schaf) nahe an die Durchströmungswerte von *Barcroft* und *Brodie*[4]) heranreichen.

Daß die Mamma nach der entgegengesetzten Seite abweicht, ist bei dem hohen Fettgehalt dieses Organs selbstverständlich.

---

[1]) Zeitschr. f. Biologie **18**, 161, 1923 (dort auch die ältere Literatur).

[2]) l. c.

[3]) l. c.

[4]) Journ. of phys. **32**, 1904; **33**, 1905.

Tabelle I.

Atmungsgröße überlebender Organe verschiedener Tierarten in ccm O_2 pro 1 g Trockensubstanz bei 38 bis 40°C in einer Minute.

Tierart	Überlebende Gewebe											
	Leber	Niere	Muskel	Milz	Lunge	Pankreas	Thyreoid	Submaxilaris	Gehirn	Nebenniere	Mamma	Hoden
Maus	0,190	0,212	0,210	0,240	0,212	—	—	—	—	—	—	—
	(0,222)		((0,198))									
Ratte	[0,22]	[0,40]	[0,124]	[0,14]	—	[0,092]	[0,26]	[0,084]	[0,214]	—	—	[0,246]
	[0,136]		([0,136])						((0,204))			—
Meerschweinchen	0,102	0,35	—	(0,152)	0,078	—	—	—	0,12*	—	0,052	
	(0,088)	(0,23)										
Kleine Vögel (Taube, Huhn)	0,134	(0,248)	—	(0,192)	—	—	—	—	—	—	—	—
	(0,192)											
Katze	0,240	0,301	—	0,153	—	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen	0,124	0,350	—	0,195	0,199	—	—	0,088	—	—	—	—
		(0,192)		(0,146)								
Hund	0,160	0,235	—	0,115	0,140	0,113	0,130	0,183	—	—	—	—
Schaf	0,130	0,354	—	0,107	—	—	—	0,134	—	—	—	—
	(0,062)	(0,236)		(0,100)								
Kalb	0,135	0,232	—	0,154	—	0,149	—	—	—	—	—	—
Ochs	0,09?	0,112	—	0,106	—	0,09	—	0,127	—	0,178	—	—
Mensch	0,11*	—	0,200	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Lebende Organe im Tierkörper.												
Verschiedene kleine Tiere	0,100	0,425	0,02	—	—	0,20	—	0,12	0,10	—	—	—

Um das gewonnene Zahlenmaterial, das über die absoluten Werte wegen seiner Kleinheit selbstverständlich noch nichts Endgültiges sagen kann, für das in Frage stehende Problem richtig auszuwerten, sind in Tabelle II die Mittelwerte für den Sauerstoffverbrauch der

Tabelle II.

Durchschnittszahlen pro 1 g Trockensubstanz und 1 Min. und Vergleiche mit den Verhältnissen beim lebenden Tiere.

Tierart	1	2	3	4	5	6
	O_2-Verbrauch der untersuchten Organe im Durchschnitt	Maximale Abweichungen im einzelnen nach oben	Maximale Abweichungen im einzelnen nach unten	Gesamter O_2-Verbrauch des lebenden Tieres absolut	Gesamtverbrauch relativ bezogen auf Ochs = 100 Proz.	O_2 d. überl. Organe / O_2 d. lebend. Tieres
	ccm	Proz.	Proz.	ccm	Proz.	
Maus	0,200	+ 20	— 10	0,20	3330	1,0
Ratte	0,190	+ 100	— 60	0,10	1667	1,9
Meerschweinchen	0,176	+ 100	— 50	0,088	1470	2,0
Vogel	0,206	+ 24	— 36	0,042	700	4,9
Katze	0,240	+ 30	— 34	0,046	750	5,0
Kaninchen	0,124	+ 80	— 50	0,045	750	4,4
Hund	0,160	+ 54	— 27	0,030	500	5,1
Schaf	0,130	+ 80	— 50	ca. 0,020	330	9,6
Mensch	0,15	+ 27	— 27	0,016	270	10,0
Kalb	0,135	+ 40	— 20	ca. 0,010	170	16,8
Ochs	0,119	+ 50	— 24	0,006	100	20,0

untersuchten Organe, die maximalen und minimalen Abweichungen davon sowie die Beziehungen der Eigengewebsatmung zur Gesamtatmung des lebenden Tieres zusammengestellt. In den Stab 1 sind nicht mit aufgenommen die sicher zu niedrigen Werte für die Schafleber von *Wels* sowie unsere Zahlen für Mamma wegen des unverhältnismäßig großen Fettreichtums dieses Gewebes.

Die Tiere sind geordnet nach der Größe, beginnend mit der Maus. Es zeigt sich, daß Maus, Ratte und Vogel etwa den gleichen Durchschnittswert der Gewebsatmung haben, die Zahl für die Katze geht darüber hinaus, was wohl damit zusammenhängt, daß hier außer der Niere nur noch die Milz und Leber, letztere mit besonders hohen Werten von uns untersucht wurden. Im übrigen sinken die Werte mit der Größe etwas ab, so daß beim Ochsen mit 0,12 der tiefste Wert erreicht wird. Diese verhältnismäßig außerordentlich geringe, aber deutliche Abnahme ist wohl als eine ererbte Protoplasmaeigenschaft zu betrachten, kommt aber gegenüber den später zu besprechenden Verhältnissen im Leben kaum in Betracht.

Stab 2 bringt die maximalen Abweichungen vom Mittelwert fü einzelne Gewebe nach oben. Sie betragen zweimal bis 80 Proz., zweima sogar 100 Proz. Die Ursache dafür ist die oben hervorgehobene Sonderstellung der Niere. Läßt man die hohen Werte für dies Organ fort so bleiben die maximalen Abweichungen stets unter 50 Proz., meis sind es nur 20 bis 30 Proz. Die maximalen Abweichungen nach unten sind viel geringer, maximal — 60 Proz., unter Nichtmitberücksichtigung der Niere schrumpfen sie auf maximal 40 Proz., meist nur 20 bis 30 Proz zusammen. Für die Beurteilung dieser Abweichungen ist folgendes zu bedenken. Das Trockengewicht ist keineswegs eine ideale Bezugseinheit und setzt sich bei den verschiedenen Organen aus sehr verschiedenem Gehalt an Glykogen und Fett zusammen, maßgebend für die Atmung ist aber die uns nicht bekannte Menge des lebendigen Protoplasmas, für die nach den interessanten Untersuchungen von *Breton* und *Schaefer*[1]) vielleicht der Puringehalt als Maß des Kerneiweißes einen guten Indikator abgibt. Die Beziehung des Sauerstoffverbrauchs auf den N-Gehalt der Organe würde wahrscheinlich bessere Resultate ergeben als die auf die Trockensubstanz, ist aber auch nicht einwandfrei.

Dazu kommt die schon oben erwähnte, zum Teil recht beträchtliche Streuung der Einzelzahlen für das gleiche Gewebe der gleichen Tierart, das nach den Untersuchungen von *Meyerhof* und seinen Mitarbeitern [2]) vielleicht zum Teil durch den wechselnden Ernährungszustand, daneben aber vielleicht auch durch unbekannte Faktoren, bei abnorm niedrigen Zahlen wohl sicher durch irgendwelche Vitalitätsschädigungen bedingt ist. Zieht man den nicht unbeträchtlichen Einfluß aller dieser Faktoren in Betracht, so müssen in Anbetracht der außerordentlichen anatomischen und physiologischen Verschiedenheiten der untersuchten Organe die Abweichungen vom Mittelwert, vor allem nach Herausnahme der Nierenzahlen, als sehr gering angesprochen werden. Es besteht tatsächlich hinsichtlich der Atmung eine gewisse Uniformität des Organprotoplasmas.

Sehr viel bemerkenswerter ist aber die Tatsache, daß sich die einzelnen Tierarten in der Größe ihrer Eigengewebsatmung so relativ wenig voneinander unterscheiden. In Stab 4 sind aus dem reichen Zahlenmaterial der Literatur [Zus. der meisten Werte bei *Krogh*[3]) und *Loewy*[4])] für den respiratorischen Gaswechsel der von uns untersuchten

---

[1]) *E. Le Breton* und *G. Schaeffer*, Variations biochemiques du rapport nucléo-plasmatique. Paris, Masson u. Co., 1923.

[2]) l. c.

[3]) *A. Krogh*, The respirat. exchange of anim. and mans. London, Longmans Green, 1916.

[4]) l. c.

Tiere die Werte für den Sauerstoff auf die gleiche Einheit (1 g Trockensubstanz und 1 Minute) umgerechnet, wie unsere Gewebsatmungsversuche. Ein exakter absoluter Vergleich ist dadurch natürlich nicht ermöglicht, da einmal beim Gesamttier nicht die gesamte Trockensubstanz gleichmäßig atmet (so Knochen- und Gefäßsystem und Fett nur ganz minimal), andererseits aber in den vorliegenden Versuchen nicht sämtliche atmenden Gewebe, vor allem nur bei einzelnen Tierarten die Muskulatur, untersucht worden sind, so daß wir nicht wissen, ob die in Stab 1 berechneten Durchschnittszahlen tatsächlich den Mittelwert für die Gewebsatmung des ganzen Tieres darstellen. Die Beziehung der Atmung auf die Trockensubstanz eines Organismus ist mißlich, da nur ein Teil der Trockensubstanz im Leben atmet.

Wie groß der Anteil nicht atmenden Gewebes ist, läßt sich mit einiger Genauigkeit gar nicht angeben. Auf Grund der *Vierodt*schen Tabellen[1]) läßt sich berechnen, daß etwa 25 Proz. der Trockensubstanz beim Manne von 60 kg auf das Skelett entfällt, die Menge des Fettgewebes und des darin enthaltenen Wassers schwankt so ungeheuer, daß alle Schätzungen hier erst recht auf unsicheren Füßen stehen. Wenn wir 5 Proz. der Trockensubstanz beim Gesunden als Fett rechnen, so dürfte dieser Wert eher zu hoch als zu niedrig sein. Die Unsicherheit wächst dadurch, daß nach unseren Untersuchungen auch das Fettgewebe einen gewissen O_2-Verbrauch hat, beim Menschen etwa 0,02 bis 0,04 ccm pro Gramm und Minute, was bei seinem Gefäßreichtum nicht erstaunlich ist. Andererseits atmen auch gewisse Teile des Knochens, wie das Mark, das Periost und vielleicht auch einzelne Knorpelzellen.

Will man sich trotz aller dieser Unsicherheiten eine gewisse Vorstellung davon machen, wie die der Gewebsatmung entsprechenden Werte beim Gesamttier aussehen, so müßten die in Stab 4 der Tabelle II angegebenen Zahlen wohl noch um etwa 25 Proz. zu erhöhen sein. Aus diesen Gründen ist auch auf das zufällige Zusammenfallen der Werte für die Maus (0,20 in Stab 1 und 4) keinerlei Gewicht zu legen, die exakte Vergleichszahl in Stab 4 würde, wie gesagt, vermutlich erheblich höher liegen. Entscheidend sind aber für unsere Frage nicht die absoluten Zahlen, sondern die Verhältniszahlen, d. h. die Frage, wie verhalten sich Gewebsatmung und Gesamtorganismusatmung bei den einzelnen Tierklassen zueinander. Wie die Zahlen des Stabes 4 zeigen, sinken die Werte für den Sauerstoffverbrauch des ganzen Tieres pro 1 g und 1 Minute mit zunehmender Größe gewaltig ab [von 0,20 (Maus) bis 0,006 (Ochs)]. Klarer kommen die Verhältnisse zum Ausdruck, wenn die Werte, wie es in Stab 5 geschehen ist, prozentual auf den Ochsen (= 100 gerechnet) bezogen werden. Dann ergibt sich, daß die Gewebseinheit der Maus 33,3mal intensiver atmet als die Gewebs-

[1]) *Vierodt,* Anatomisch-physiologische und physikalische Daten und Tabellen. Jena, Fischer, 1906.

einheit des Ochsen. Wenn wirklich, wie es bisher meist angenommen wurde [vgl. z. B. *Rubner*[1])], die Oxydationsintensität jeder Tierspezies lediglich eine ererbte, dem Energiebedarf des gesamten Körpers angepaßte Größe wäre, so müßte der Quotient Eigengewebsatmung: Gesamttieratmung für alle Tierspezies annähernd den gleichen Wert haben. Wie die Zahlen des sechsten Stabes lehren, ist das nicht der Fall. Die Werte steigen mit zunehmender Größe der Tiere gewaltig an, so daß wir bei der Maus einen Quotienten von 1,0, beim Ochsen dagegen einen solchen von 20,0 haben, mit anderen Worten, die Eigengewebsatmung des Ochsen außerhalb des Verbandes des lebendigen Organismus ist etwa 20fach größer als im lebendigen Körper. Wir möchten nochmals betonen, daß diese Zahlen nur approximative Bedeutung haben, weil uns für eine exakte Berechnung noch viele Grundlagen fehlen. Die Differenzen sind aber so gewaltig, daß für die prinzipielle Frage selbst Abweichungen von $\pm$ 100 Proz. vollkommen irrelevant sind.

Wir stehen also vor der sehr bemerkenswerten neuen Tatsache, daß das überlebende Warmblüterprotoplasma eine im Vergleich zum lebenden Tiere auffallende Uniformität hinsichtlich seiner Atmung hat. Selbst der Frosch und unter Umständen die Hefezelle weichen von diesen Zahlen nicht erheblich ab, doch soll auf diese Dinge erst an anderer Stelle eingegangen werden.

Die gefundenen Tatsachen erheben die von *Büchner* und *Grafe*[1]) vorsichtig als Arbeitshypothese aufgestellte Behauptung, *daß im lebenden Organismus besondere Einrichtungen vorhanden sein müssen, welche die Eigengewebsatmung dem Energiebedarf des Organismus anpassen, zur Gewißheit.* Es liegt hier also zweifellos ein allgemeines, sehr eingreifendes Organisationsprinzip vor. Bei den großen Tieren muß dieser Regulationsmechanismus eine Dämpferwirkung ausüben, d. h. z. B. beim Ochsen die Eigenatmung von 100 Proz. auf etwa 5 Proz. herabsetzen.

Wie kommt diese gewaltige, der Größe nach fein abgestimmte Einwirkung zustande?

Entscheidend für die Verbrennungsgröße im Leben ist in erster Linie die Frage der Durchblutung, und diese ist vor allem abhängig von der Anzahl der vorhandenen Blutgefäße. Demzufolge könnte man daran denken, daß die großen Differenzen zwischen lebendem und überlebendem Gewebe bei den einzelnen Tierarten durch sehr verschieden starke Gefäßversorgung bedingt sind, so daß diese mit zunehmender Größe der Tiere immer geringer wird, ja, wir müßten erwarten, daß der Quotient $\frac{\text{Gefäß- bzw. Kapillarquerschnitt}}{\text{Organquerschnitt}}$ beim Ochsen

---

[1]) l. c.

etwa 20mal kleiner ist als bei der Maus. Vom Standpunkt der *Roux*schen Entwicklungsmechanik (vgl. in diesem Zusammenhang die interessante Studie von *A. Oppel*[1]) über die gestaltliche Anpassung der Blutgefäße) wäre dergleichen zu erwarten. Angaben über die Anzahl der Kapillaren pro Quadratmillimeter Gewebe liegen bisher nur für einzelne Tiere für den Muskel vor, und zwar fand da *Krogh*[2]), daß auf die Einheit des Querschnitts beim Meerschweinchen 3000, beim Hunde 2500, beim Pferde 1400 Kapillaren kommen, die Zahl nimmt also mit zunehmender Größe der Tiere etwas ab, aber doch nur im Verhältnis von 1 : 1,7 bzw. 1,21, während die Stoffwechselintensität von Meerschweinchen : Pferd, auf die Gewichtseinheit bezogen, sich wie 1,6 : 12 verhält.

Immerhin sind also gewisse Differenzen auf diese Art erklärbar, aber sie reichen nicht aus. Ganz kürzlich hat nun *Terroine*[3]) versucht, die verschiedene Intensität der Verbrennungen großer und kleiner Tiere mit der Größe der Blutzufuhr dadurch zu erklären, daß er noch die Anzahl der Herzkontraktionen mit in Rechnung stellte. Er bildete den Quotienten

$$\frac{\text{Kalorienproduktion pro Kilogramm und Stunde}}{\text{Anzahl der Herzkontraktionen} \times \text{Anzahl der Muskelkapillaren pro Quadratmillimeter Querschnitt}}$$

Er erhielt dabei für das Pferd den Wert

$$\frac{0.5}{2400\,.\,1400} \cdot 10^8 = 23,$$

für den Hund

$$\frac{3}{600\,.\,2500} \cdot 10^8 = 20,$$

für das Meerschweinchen

$$\frac{6}{10\,500\,.\,3000} \cdot 10^8 = 19.$$

also nahe beieinander liegende Zahlen. Die Blutzufuhr und damit die Sauerstoffzufuhr zum Muskel würde also in der Zeiteinheit beim Meerschweinchen etwa zehnmal größer als beim Pferde sein. Dann wäre also die Größe der Muskelatmung eine Funktion der Durchblutungsgröße. Das würde dem *Pflüger*schen Gesetz widersprechen, es sei denn, daß man die Annahme macht, daß die Zellen des Meerschweinchens darum soviel mehr O_2 bekommen und verwenden, weil sie für die

[1]) *A. Oppel*, Über die gestaltliche Anpassung der Blutgefäße. Vorträge und Aufführungen über Entwicklungsmechanik des Organismus von *W. Roux*, Heft 10. Leipzig, Engelmann, 1910.

[2]) Journ. of phys. 52, 409, 1919.

[3]) C. r. de l'Acad. des scienc. A 178, 1022, 1924; Metabolisme de base, S. 72. Paris 1925. — In einer Fußnote (vgl. S. 73) dieses Buches erwähnt *T.*, daß er mit Versuchen über die Gewebsatmung beschäftigt sei, die anscheinend das gleiche Resultat haben wie unsere Versuche. Die älteren Mitteilungen von *Büchner* und *Grafe* scheinen ihm entgangen zu sein.

Energieproduktion des Körpers zehnmal mehr Arbeit leisten müssen als die Muskelfasern des Pferdes. Dann aber entsteht die Frage, woher bekommen die Zellen den Antrieb zur vermehrten Arbeitsleistung. Da nach unseren Versuchen das nur zum allerkleinsten Teile eine ererbte Elementarfunktion der einzelnen Tierspezies ist, so bliebe nur die Annahme übrig, daß der vermehrte oder verminderte Oxydationsreiz durch die Regulationssysteme, Zentralnervensystem eventuell Inkretdrüsen, vermittelt wird. Wir würden also vor der Alternative stehen, entweder das durch unzählige Tatsachen gut gestützte *Pflüger*sche Gesetz fallen zu lassen oder dem Regulationssystem einen gewaltigen, bisher ungeahnten Einfluß einzuräumen. Auch Kombinationen von beiden wären denkbar.

So ansprechend und interessant gerade im Hinblick auf unsere Versuche die Deutung *Terroines* ist, so darf ihr hypothetischer Charakter doch nicht übersehen werden. Abgeleitet ist sie zunächst nur für den Muskel, da nur da über das Kapillarsystem Untersuchungen vorliegen. Ob sie auf die übrigen Organe ausgedehnt werden kann, bleibt fraglich, denn eine generell stärkere Kapillarversorgung der kleinen Tiere gegenüber den großen würde wohl notwendig mit einer relativ größeren Blutmenge verknüpft sein. Dies ist aber keineswegs der Fall, vielmehr beträgt die Blutmenge der Maus etwa 5,4 bis 8,2 Proz., des Menschen 7,7 Proz. des Gesamtkörpergewichts [Literatur bei *Seyderhelm* und *Lampe*[1]) und *F. N. Schulz*[2])], es besteht also keine für unsere Frage in Betracht kommende Differenz. Wenn somit auch vielleicht manche Verschiedenheiten in den Durchblutungsverhältnissen zwischen kleineren und großen Tieren bestehen und auf diese Weise sich gewisse Erklärungsmöglichkeiten für unsere Befunde bieten, so kommt man doch um die Annahme nicht herum, daß im Leben das Gewebe noch besonderen Einwirkungen unterliegt, die nach Entnahme aus dem Körper fortfallen. Daher liegt der Gedanke nahe, die beiden großen Regulationsmechanismen zur Erklärung heranzuziehen, Inkretsystem und Nervensystem. Es unterliegt keinem Zweifel, daß das erstere System, insbesondere die Thyreoidea eine sehr erhebliche Einwirkung auf die Intensität der Verbrennungen hat, aber bisher ist keine Tatsache bekannt geworden, die darauf schließen läßt, daß der Einfluß von der Größenordnung ist, wie sie für unseren Fall anzunehmen wäre. Ferner ist zu bedenken, daß das Thyroxin stoffwechselsteigernd, nicht wie es für unseren Fall zu fordern ist, herabsetzend wirkt.

---

[1]) Die Blutmengenbestimmung und ihre klinische Bedeutung. Erg. d. inn. Med. **27**, 245, 1925.

[2]) Das Blut der Wirbeltiere. Wintersteins Handb. d. vergl. Phys. **1**, 59. Lieferung. Jena, Fischer, 1925.

Schließlich haben Versuche von *Reinwein* und *Singer*, über die in der nächsten Mitteilung berichtet werden soll, gezeigt, daß in vitro die Gewebsatmung nach der *Warburg*schen Methode von den Inkreten nicht sicher beeinflußt wird.

Wenn auch gleichwohl dem Inkretsystem ein gewisser regulativer Einfluß auf die Oxydationsgröße im lebenden Organismus nicht abgesprochen werden kann [Literatur bei *Grafe*[1])], so reicht er doch keineswegs aus, unsere merkwürdigen Befunde zu erklären.

Das Zentralnervensystem kann auf doppeltem Wege die Intensität des Stoffwechsels im Gewebe modifizieren, einmal indirekt auf dem Wege über das Gefäßnervensystem und zweitens durch direkte Einwirkung auf die Quellen der Energieproduktion. Für den Muskel ist es ganz unzweifelhaft, daß seine vermehrte Tätigkeit mit einer erheblichen Erweiterung seiner Gefäße und einer gewaltigen Steigerung der Durchblutung verknüpft ist, und andererseits wissen wir durch die schönen Untersuchungen von *Krogh* [2]), daß hier in der Ruhe viele Kapillaren geschlossen sind. Damit stimmt gut überein, daß *Verzár*[3]) im ruhenden Muskel einen sehr niedrigen, fast bis 0 herabreichenden Partialdruck des Sauerstoffs fand. Die großen Differenzen im Sauerstoffverbrauch des überlebenden, maximal mit O_2 gesättigten Muskels (etwa 0,2 ccm) gegenüber dem lebenden ruhenden Muskel (etwa 0,20 ccm nach *Chauveau* und *Kaufmann*, *Elias* und *Verzár* [Literatur bei *Fürth*[4])] läßt sich zweifellos am besten durch die außerordentlich verschiedenen O_2-Partialdrucke in beiden Fällen erklären. Tatsächlich hat der stark arbeitende, dann wohl maximal mit Sauerstoff gesättigte Muskel einen etwa zehnfach höheren O_2-Verbrauch und liegt dann mit seinen Zahlen etwa auf dem Niveau des überlebenden.

Für die Muskelatmung ist demnach die außerordentliche Abhängigkeit von der Sauerstoffzufuhr erwiesen, auch in *Nakamuras*[5]) Versuchen besteht die Unabhängigkeit nur für ein gewisses Intervall, unterhalb eines bestimmten Partialdruckes sinkt die Atmung auch in seinen Untersuchungen erheblich ab. Unterhalb dieses Grenzwertes gilt das *Pflüger*sche Gesetz[6]) von der Unabhängigkeit der Oxydationsgröße vom Sauerstoffangebot nicht mehr.

---

[1]) l. c.
[2]) Zus. in Anatomie und Physik der Kapillaren, deutsch von *Ebbecke*, Monographie aus dem Gesamtgebiet der Physiologie der Pflanzen und der Tiere, Heft 5. Berlin, Springer, 1924.
[3]) Journ. of phys. **44**, 243, 1912.
[4]) Stoffwechsel des Herzens und des Muskels. Oppenheimers Handb. d. Biochem., 2. Aufl., **8**, 9. Hauptteil, S. 39, 1923.
[5]) Journ. of physiol. **55**, 100, 1921.
[6]) Pflügers Arch. **6**, 190, 1872; **10**, 251, 1875.

Da die Sauerstoffzufuhr aber von der Weite der Gefäße abhängt und diese wieder vom Gefäßnervensystem reguliert wird, so ist jedenfalls für den Muskel die überragende Rolle dieses Faktors erwiesen.

Über das Angeführte hinaus müßte man aber noch annehmen, daß z. B. der ruhende Ochsenmuskel, die gleiche intensive Gefäßversorgung vorausgesetzt, weniger O_2 erhält als der Mausmuskel, d. h. also, daß etwa in dem gleichen Verhältnis etwa 20mal mehr Kapillaren geschlossen sind. Ob das tatsächlich der Fall ist, entzieht sich unserer Kenntnis. Überblickt man die von *Elias*[1]) und *Fürth*[2]) zusammengestellten Werte für die Kohlensäureproduktion der ruhenden Muskulatur von Katze, Hund und Pferd sowie die Sauerstoffzahlen von *Freund* und *Janssen*[3]) bei der Katze, so finden sich da keine prinzipiellen Differenzen, der Mittelwert ist etwa 4,5 ccm pro Kilogramm Muskel und Minute (= 0,018 ccm pro Gramm Trockensubstanz und Minute), allerdings ist die Technik der Versuche zum Teil recht anfechtbar, *Elias* selbst hat seine Versuche am überlebenden durchströmten Muskel angestellt. Da zudem die maximalen Differenzen der Versuche zwischen 2 und 8 ccm CO_2 schwanken, so gestattet das bisher vorliegende Material für unsere Frage keine entscheidenden Schlüsse; will man es überhaupt verwerten, so läßt sich ihm jedenfalls nicht entnehmen, daß der lebende intakte Muskel der kleineren Tiere einen erheblich größeren Stoffverbrauch hat als der der größeren. Somit muß schon für den Muskel die Frage offen bleiben, ob es richtig ist, dem Gefäßnervensystem in unserer Frage den entscheidenden Einfluß einzuräumen. Erst recht gilt das für die anderen Organe, für welche die Kapillarverhältnisse noch nicht genügend untersucht sind. An und für sich ist es ja sehr wahrscheinlich, daß die von *Krogh*[4]) für die Muskelkapillaren festgestellten Tatsachen auch für andere Organe gelten und daß hier ein allgemeines Organisationsprinzip vorliegt. Wenn man die gewaltigen Schwankungen (1000 Proz.), welche *Barcroft* und *Shore*[5]) für den intravitalen Sauerstoffverbrauch der Leber fanden, im Sinne des Autors als Folge des verschiedenen Tätigkeitszustandes der Leberzellen auffaßt, so sind diese Differenzen wohl nur auf große Unterschiede in der Durchblutung zurückzuführen, so daß hier schon Analogien zum Muskel sehr wahrscheinlich, wenn nicht nachgewiesen sind. Ähnliche Angaben liegen für die Speicheldrüsen vor (Literatur bei *Loewy*). Aus allen solchen Beobachtungen muß man schließen, daß die Stärke der Durchblutung, d. h. die Größe der Sauerstoff-

[1]) Diese Zeitschr. **55**, 135, 1913.
[2]) l. c.
[3]) Pflügers Arch. **200**, 96, 1923.
[4]) l. c.
[5]) Amer. Journ. of phys. **62**, 177, 1922.

versorgung an sich schon primär von gewaltigem Einfluß auf die Intensität der Verbrennung ist. Zweifelhaft bleibt nur, ob damit auch die großen Differenzen in unseren Versuchen ausreichend erklärt sind.

Außer auf dem Wege über das Gefäßsystem vermag das Nervensystem aber auch direkt die Intensität der Verbrennungen im Gewebe zu beeinflussen. Die von *Freund* und *Grafe*[1]) gefundene und von *Isenschmid*[2]) bestätigte Tatsache, daß nach Halsmarkdurchschneidung der N-Umsatz von Hunden und Kaninchen gewaltig ansteigt, läßt sich kaum anders deuten als durch die Annahme, daß hier eine Dämpferwirkung des Zentralnervensystems auf den Eiweißstoffwechsel, wahrscheinlich in der Leber, in Fortfall gekommen ist, und für den Muskel hat *Nakamura*[3]) den Beweis erbracht, daß hier nach Degeneration des spinalen Nerven der Sauerstoffverbrauch auf das Siebenfache ansteigt. Daß also Hemmungswirkungen vom Zentralnervensystem ausgelöst werden können, wie übrigens schon *Claude Bernard, Naunyn, Quincke* sowie *Harnack* [Literatur bei *Grafe*[4])] es vermutet haben, scheint somit bewiesen. Unklar bleibt aber, in welchem Umfange das der Fall ist und wieweit solche Wirkungen bei der Diskrepanz der Werte des überlebenden Gewebes mit dem lebenden Organe im intakten Verbande des Körpers beteiligt sind.

So bieten sich einer befriedigenden Erklärung noch viele Schwierigkeiten, deren Überwindung das Ziel weiterer Untersuchungen sein muß, und wir betrachten es lediglich als eine Arbeitshypothese, wenn wir die Hauptrolle dem Nervensystem zuschreiben.

Die Tatsache aber als solche, *daß das Warmblüterprotoplasma seine artspezifische Eigenschaft in energetischer Beziehung, welche wesentlich durch das Oberflächengesetz beherrscht wird, erst im Verbande des lebenden Organismus erhält,* scheint uns durch die mitgeteilten Beobachtungen, so sehr sie im einzelnen zweifellos noch der Erweiterung und Ergänzung bedürfen, sichergestellt zu sein.

---

[1]) Pflügers Arch. **168**, 1, 1917; Arch. f. exper. Path. **93**, 285, 1922.
[2]) Arch. f. exper. Path. **85**, 271, 1920.
[3]) l. c.
[4]) Die nervöse Regulation des Stoffwechsels. Oppenheimers Handb. d. Biochem. **9**, 10. Hauptteil, 1925.

Mikrobestimmung des Stickstoffs.

Von

A. Kultjugin und **N. Iwanowsky.**

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Staatlichen Universität in Saratow.)

(Eingegangen am 29. August 1925.)

Beim Arbeiten mit *Bangs* Mikromethode[1]) der Stickstoffbestimmung kamen wir zu der Überzeugung, daß in der von *Bang* angegebenen Form diese Methode auf keine weite Verbreitung rechnen kann. Der Grund hierzu liegt unseres Erachtens in dem Umstande, daß (zur Erzielung einwandfreier Resultate) das Kühlrohr unbedingt aus Quarzglas hergestellt sein muß; es durch ein anderes Rohr zu ersetzen, ist nicht möglich. Unsere wenig glücklichen Versuche, Stickstoff nach *Bang* zu bestimmen, glauben wir nur durch das Fehlen des teuren Quarzrohres, nicht aber durch Verunreinigung mit Ammoniak aus der Luft erklären zu können.

Bei Stickstoffbestimmungen unter Benutzung eines Rohres aus gewöhnlichem Glase konnten wir immer eine Bindung der Schwefelsäure in der Vorlage verzeichnen; das Ammoniak nahm an dieser Säurebindung nicht teil. (Mit Nesslerreagens konnte in der Vorlage kein Ammoniak nachgewiesen werden.) Die Menge der gebundenen Säure in der Vorlage nahm dabei, wie aus der Tabelle I ersichtlich, mit der Destillationsdauer fortwährend zu.

Tabelle I.

Nr.	Destillationsdauer in Minuten	Menge der n/200 Schwefelsäure in der Vorlage ccm		
		abgemessen	freigeblieben	gebunden
1	2	1,0	0,7	0,3
2	2	1,0	0,75	0,25
3	2	1,0	0,75	0,25
4	2	1,0	0,7	0,3
5	4	1,0	0,0	Die ganze Menge

[1]) *I. Bang*, Mikromethoden der Blutuntersuchung.

Die Lauge konnte hier unseres Erachtens nur aus dem Glase selbst stammen.

Da Quarzglas meistens schon seines Preises wegen sehr schwer zu erstehen ist, so versuchten wir, *Bangs* Methode derart abzuändern, daß man dabei auch ohne Quarzglas auskommen könnte, wodurch die ganze Methode an Zugänglichkeit beträchtlich gewinnen würde.

Da der Hauptfehler bei den Bestimmungen in der Auslaugung des Glases liegt (bei mehr oder weniger ammoniakfreier Luft), so versuchten wir, das jodometrische Verfahren der Ammoniakbestimmung durch ein kolorimetrisches (Nesslerisation) zu ersetzen. Bei dem jodometrischen Verfahren wird, wie leicht zu verstehen ist, nicht nur das Ammoniak selbst, sondern die Summe aller Basen bestimmt; bei der Nesslerisation dagegen wird nur das Ammoniak bestimmt.

Unser Verfahren besteht in folgendem. In einen runden, kleinen, langhalsigen Kolben (50 bis 100 ccm) aus widerstandsfähigem Glase wird die nötige Menge (0,5 bis 1,0 ccm) der zu untersuchenden Flüssigkeit genau abgemessen. Der Stickstoffgehalt dieser Probe soll nicht mehr als 0,05 mg betragen; größere Mengen des Stickstoffs vermindern die Genauigkeit der kolorimetrischen Ammoniakbestimmung. Es werden einige Kupfersulfatkristalle und 1 ccm konzentrierter, möglichst ammoniakfreier Schwefelsäure hinzugegeben. Veraschung und Überdestillation wird wie bei *Bang* vorgenommen. Die Veraschung dauert gewöhnlich nicht mehr als 5 Minuten, die Überdestillation 3 Minuten. Als Vorlage dient ein gewöhnliches Reagenzglas (180 × 18 mm) mit 2 ccm einer etwa n/200 Schwefelsäure. Außerdem wird ein Blindversuch angestellt. Als Vorlage dient auch hier ein Reagenzglas, dessen Durchmesser dem des ersteren gleich ist. Nach der Überdestillation des Ammoniaks werden beide Gläser bis zur Marke (bei 15 ccm) mit doppelt destilliertem Wasser aufgefüllt und zu je 0,5 ccm Nesslerreagens hinzugegeben. Beide Gläser werden geschüttelt, und in das zweite Glas wird aus einer Mikrobürette nach und nach so lange eine genau hergestellte Ammoniumchloridlösung (1 ccm enthält 0,05 mg Stickstoff) hinzugegeben, bis in beiden Gläsern gleiche Farbintensität herrscht. Die Menge der hinzugefügten Ammoniumchloridlösung in Kubikzentimetern multipliziert mit 0,5 ergibt die Stickstoffmenge in Milligrammen in der Versuchsprobe.

Die Fehlergrenzen bei der Überdestillation und Nesslerisation des Ammoniaks wurden an Hand einer genau hergestellten Ammoniumchloridlösung studiert. Die Resultate sind aus Tabelle II zu ersehen.

Der mittlere Fehler bei der Überdestillation und Nesslerisation des Ammoniaks beträgt also ± 2,0 Proz.

Die Genauigkeit des Verfahrens im ganzen wurde an Hand von genau hergestellten Harnstoff-, Glykokoll-, Alanin- und Asparagin-

Tabelle II.

Ammoniumchlorid-lösung	Stickstoffgehalt im Veraschungskolben	Stickstoffgehalt in der Vorlage gefunden	Fehler	
			absolut	
ccm	mg	mg	mg	Proz.
0,3	0,015	0,0150	0,0	0,0
0,3	0,015	0,0150	0,0	0,0
0,4	0,020	0,0195	— 0,0005	— 2,5
0,5	0,025	0,0260	+ 0,0010	+ 4,0
0,5	0,025	0,0240	— 0,0010	— 4,0
0,6	0,030	0,0300	0,0	0,0
0,7	0,035	0,0335	— 0,0015	— 4,3
0,8	0,040	0,0405	+ 0,0005	+ 1,3

lösungen (Reagenzien von *Kahlbaum*) geprüft. Über diese Versuche gibt Tabelle III Auskunft.

Tabelle III.

	Stickstoffgehalt in mg		Fehler	
	abgemessen	gefunden	absolut in mg	in Proz.
Harnstoff	0,0325	0,0350	+ 0,0025	+ 7,7
Glykokoll	0,0443	0,0420	— 0,0023	— 5,2
Alanin	0,0300	0,0285	— 0,0015	— 5,0
Asparagin	0,0373	0,0360	— 0,0013	— 3,5

Der mittlere Fehler beträgt also $\pm$ 0,0019 mg = $\pm$ 5,4 Proz.

Nach diesem Verfahren wurde unter anderem der Gesamt- und Reststickstoff des Blutes von Kaninchen bestimmt.

Zur Bestimmung des Gesamtstickstoffs wurden mit einer Kapillarpipette (aus *Sahlis* Hämoglobinometer) 20 cmm Blut genommen und in 10 ccm destillierten Wassers hämolysiert. Zur Bestimmung wurden 0,5 ccm in den Rundkolben abgemessen. Näheres s. Tabelle IV.

Tabelle IV.

		Stickstoffgehalt, gefunden in 0,5 ccm Kaninchenblut (Lösung) mg	Differenz der einzelnen Bestimmungen mit dem Mittelwert mg
Kaninchen Nr. 1	1	0,0200	— 0,0004
	2	0,0198	— 0,0006
	3	0,0215	+ 0,0011
	Mittelwert	0,0204	—
Kaninchen Nr. 2	1	0,0230	+ 0,0007
	2	0,0230	+ 0,0007
	3	0,0210	— 0,0013
	Mittelwert	0,0223	—
Kaninchen Nr. 3	1	0,0295	0,0
	2	0,0295	0,0
	Mittelwert	0,0295	—

Zur Bestimmung des Reststickstoffs wurde 0,1 ccm Kaninchenblutserum im Zentrifugenreagenzglas mit 0,9 ccm destillierten Wassers vermengt und 2 ccm des Eiweißfällungsmittels (0,5 Phosphormolybdänsäure + 0,5 Natriumsulfat + 0,5 konzentrierter Schwefelsäure und 100 ccm destillierten Wassers) hinzugefügt. Das Glas wird geschüttelt, eine halbe Stunde stehengelassen, zentrifugiert und 1 ccm (1 : 30) des Zentrifugats zur Veraschung genommen. Näheres s. Tabelle V.

Tabelle V.

		Rest-Stickstoffgehalt, gefunden in 1 ccm Kaninchenblutserum (Lösung) mg	Differenz der einzelnen Bestimmungen mit dem Mittelwert mg
Kaninchen Nr. 1	1	0,0200	— 0,0010
	2	0,0220	+ 0,0010
Mittelwert		0,0210	—
Kaninchen Nr. 2	1	0,0230	0,0000
	2	0,0230	0,0000
Mittelwert		0,0230	—
Kaninchen Nr. 3	1	0,0165	0,0000
	2	0,0165	0,0000
Mittelwert		0,0165	—

Zusammenfassung.

Es wird vorgeschlagen, die jodometrische Bestimmung des Stickstoffs bei dessen Mikrobestimmung nach *Kjeldahl* durch eine kolorimetrische (Nesslerisation) zu ersetzen. Das gibt die Möglichkeit, bei der Überdestillation des Ammoniaks auch ohne das schwer erschwingliche Quarzglas auszukommen.

Das Verfahren erlaubt bei Mengen von etwa 0,05 mg Stickstoffgehalt mit einem mittleren Fehler von ± 5,4 Proz. zu arbeiten. Minimale Verunreinigungen der Reagenzien mit Ammoniak stören nicht, da sie sich auch im Blindversuch befinden.

Über die glykolytische Wirkung des embryonalen Gewebes.

Von

Erwin Negelein.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie, Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 2. September 1925.)

Mit 5 Abbildungen im Text.

Daß die verschiedenartigen tumorbildenden Reize die Glykolyse beschleunigen, ist unwahrscheinlich. Näher liegt es, an eine Entstehung der Tumoren *ohne* Beschleunigung der Glykolyse zu denken und die Tumorzellen aus stark glykolysierenden normalen Zellen abzuleiten [1]). Dann gibt es nur *einen* Reiz, der die Glykolyse beschleunigt, die Befruchtung.

Nach dieser Auffasung müssen normale wachsende Zellen von der (anaeroben) glykolytischen Wirksamkeit der Tumorzellen existieren. Wenn also das *Flexner*sche Rattencarcinom und das *Jensen*sche Rattensarkom pro Stunde bis 16 Proz. ihres Gewichtes an Milchsäure bilden, so müssen normale wachsende Rattenzellen existieren, die (anaerob) pro Stunde 16 Proz. ihres Gewichtes oder mehr an Milchsäure bilden. Um diese Forderung auf ihre Richtigkeit zu prüfen, habe ich — auf Vorschlag von Herrn *Warburg* — die glykolytische Wirkung von embryonalem Rattengewebe gemessen.

Hühnerembryonen von einigen Milligrammen Trockengewicht bilden nach früheren Messungen [2]) pro Stunde etwa 9 Proz. ihres Gewichtes an Milchsäure. Rattenembryonen gleichen Gewichtes bilden, wie ich fand, pro Stunde nur 3 bis 7 Proz. Milchsäure. Geht man aber zu früheren Entwicklungsstadien über, so steigt die Glykolyse der Rattenembryonen erheblich an. Ein Rattenembryo von 0,5 mg

[1]) Diese Zeitschr. **152**, 329, 1924.
[2]) Ebendaselbst **152**, 325, 1924.

Trockengewicht bildet pro Stunde 13 Proz. seines Gewichtes an Milchsäure, ein Wert, der den verlangten 16 Proz. schon nahe kommt. Immerhin liegt die Differenz von 3 Proz. weit außerhalb der Fehlergrenzen der Messungen.

Da Embryonen der Entwicklungsstadien, die der Untersuchung zugänglich sind, kompliziert zusammengesetzt sind, die einzelnen Komponenten aber nicht gleich stark glykolysieren werden, so ist der gemessene Höchstwert von 13 Proz. als ein Mittelwert zu betrachten, und es ist nach Teilen des Embryos zu suchen, deren Glykolyse größer ist als 13 Proz. Ich fand, daß die Hüllen der Fruchtblase stärker glykolysierten, als der ganze Embryo, und pro Stunde bis zu 19,6 Proz. ihres Gewichtes an Milchsäure bildeten, ein Ergebnis, mit dem meine Aufgabe erledigt war. Es gibt normale wachsende Zellen, die ebenso stark glykolysieren wie die wirksamsten Tumoren.

Einteilung der Arbeit.

I. Das Versuchsmaterial.

Um die für die Versuche notwendige Menge an jungen Embryonen zu beschaffen, hat sich folgende Anordnung bewährt: Auf sechs Käfige wurden 96 männliche und weibliche Ratten so verteilt, daß jeder Käfig acht männliche und acht weibliche Tiere enthielt. Das Futter bestand aus Korn und gekochtem Pferdefleisch. Alle 24 Stunden wurden die weiblichen Tiere der Käfige ausgewechselt, und zwar so, daß jedes Weibchen mit jedem Männchen im Laufe von 6 Tagen einmal 24 Stunden in Berührung war. Die Prüfung auf Trächtigkeit geschah durch Abtasten des Abdomens, in dem man bald nach der Befruchtung den perlenschnurartig aufgetriebenen Uterus fühlt. Bei einiger Übung können durch Abtasten tragende Tiere herausgefunden werden, deren Embryonen ein Trockengewicht von nicht mehr als 0,1 mg besitzen.

Zum Versuch wurden die Tiere durch Nackenschlag getötet. Die Embryonen wurden, möglichst in der Fruchtblase, von dem Uterus abgelöst und entweder innerhalb der Fruchtblase oder von dieser getrennt untersucht. Kleinere als 0,9 mg schwere Embryonen in der Frucht-

blase von dem Uterus abzulösen, gelang selten. Die Präparation geschah schnell und geschützt vor hellem Tageslicht. Die Flüssigkeiten, in denen das Material untersucht wurde — Ringerlösung oder Serum — waren vorher auf Körperwärme gebracht.

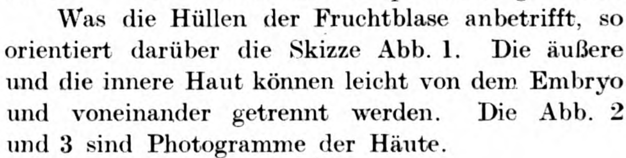


Abb. 1. Skizze der Fruchtblase mit Embryo.

Was die Hüllen der Fruchtblase anbetrifft, so orientiert darüber die Skizze Abb. 1. Die äußere und die innere Haut können leicht von dem Embryo und voneinander getrennt werden. Die Abb. 2 und 3 sind Photogramme der Häute.

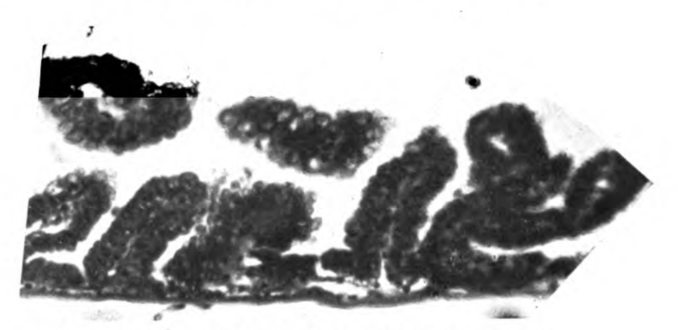


Abb. 2. Äußere Haut der Fruchtblase (200 fach vergrößert).



Abb. 3. Innere Haut der Fruchtblase (200 fach vergrößert).

II. Methodik und Bezeichnungen.

Da Ringerlösung embryonales Gewebe schädigt — worüber Näheres folgt — so wurde der Stoffwechsel im allgemeinen in Serum gemessen. Das Serum war inaktiviertes Pferdeserum, gewonnen und inaktiviert wie bei *Y. Okamoto* [1]) beschrieben. In kurzdauernden Stoffwechselversuchen ist nach unseren Erfahrungen inaktiviertes Pferdeserum

[1]) Diese Zeitschr. **160**, 56, 1925.

dem arteigenen frischen Serum gleichwertig und besitzt dabei den Vorzug, daß es leicht in großen Mengen beschafft werden kann.

Das Fruchtwasser, in dem einige Embryonen unter aeroben Bedingungen untersucht wurden, stammte von großen Embryonen (Trockengewicht etwa 200 mg).

Die Ringerlösung war dem Rattenserum isoton und enthielt 0,2 Proz. Glucose und $2{,}5 \cdot 10^{-2}$ Mole Bicarbonat pro Liter.

Die Messung der Glykolyse und Atmung geschah manometrisch durch Beobachtung der in Ringerlösung [1]) oder in Serum [2]) entwickelten Drucke, wobei in den Serumversuchen die Retention durch das Serum zu berücksichtigen war. Die aerobe Glykolyse wurde mehrfach durch die Abnahme des Bicarbonatgehaltes ermittelt [3]), die ein Gewebeschnitt in Ringerlösung oder Serum hervorbrachte.

Die Versuchszeit betrug im allgemeinen 30 Minuten, die angewandten Gewebemengen entsprachen einigen Milligrammen Trockensubstanz.

Das Ergebnis meiner Messungen drücke ich durch Quotienten aus, an deren Bedeutung hier erinnert sei. Es ist [4])

$$Q_{O_2} = \frac{\text{Verbrauchter Sauerstoff in Kubikmillimetern}}{\text{mg Gewebe (Trockengewicht) . Stunden}}$$

$$Q_S = \frac{\text{Gebildete Säure (Kohlensäure + Milchsäure) in Kubikmillimetern}}{\text{mg Gewebe . Stunden}}$$

$$Q_M^{N_2} = \frac{\text{In Stickstoff gebildete Milchsäure in Kubikmillimetern}}{\text{mg Gewebe . Stunden}}$$

$$Q_M^{O_2} = \frac{\text{In Sauerstoff gebildete Milchsäure in Kubikmillimetern}}{\text{mg Gewebe . Stunden}}$$

Multipliziert man $Q_M^{N_2}$ oder $Q_M^{O_2}$ mit $4{,}02 \cdot 10^{-3} \cdot 100$, so erhält man die Milchsäurebildung in Prozenten des Gewebegewichtes pro Stunde.

III. Anaerobe Glykolyse der Embryonen.

In 12 Versuchen habe ich die anaerobe Glykolyse von Embryonen in Serum gemessen. Die Embryonen waren aus der Fruchtblase herauspräpariert, die Hüllen der Fruchtblasen entfernt. Das Trockengewicht der Embryonen lag zwischen 0,36 und 10,6 mg.

---

[1]) Diese Zeitschr. **152**, 51, 1924.
[2]) Ebendaselbst **164**, 481, 1925.
[3]) Ebendaselbst **158**, 121, 1925.
[4]) Ebendaselbst **164**, 481, 1925.

Tabelle I.

Anaerobe Glykolyse von Rattenembryonen in Serum bei 38°.

Nr.	Gewicht eines Embryos mg	$Q_M^{N_2}$	Milchsäurebildung in Proz. des Embryotrockengewichts pro Std.	Nr.	Gewicht eines Embryos mg	$Q_M^{N_2}$	Milchsäurebildung in Proz. des Embryotrockengewichts pro Std.
1	10,6	7,5	3,0	7	1,88	16,8	6,8
2	4,89	10,8	4,3	8	1,87	14,5	5,8
3	4,89	10,6	4,3	9	0,57	27,3	11
4	4,75	9,5	3,8	10	0,47	32,0	13
5	2,62	10,0	4,0	11	0,39	26,3	10,6
6	2,48	15,1	6,1	12	0,36	18,0	7,3

Das Ergebnis der Messungen ist in Tabelle I und Abb. 4 zusammengestellt, die experimentellen Einzelheiten findet man in Protokoll 1, Abschnitt VII. Die größte Glykolyse — $Q_M^{N_2} = 32$ — zeigt ein Embryo von 0,47 mg Trockengewicht. Steigt das Embryogewicht von 0,47 auf 10,6 mg, so fällt die Glykolyse $Q_M^{N_2}$ von 32 auf 7,5. Hierbei ist die Abnahme der Glykolyse für einen gleichen Zuwachs an Gewicht um so kleiner, je schwerer[1]) (älter) der Embryo ist.

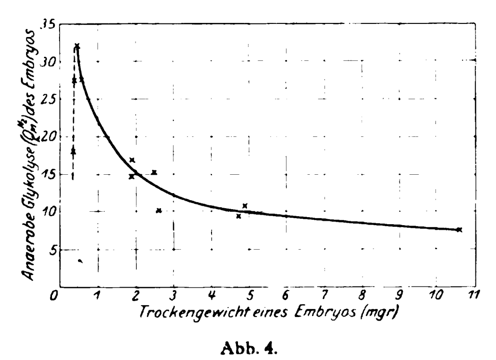


Abb. 4.

Sinkt das Embryogewicht unter 0,47 mg, so sinkt die Glykolyse gleichfalls, und zwar, wenn man von 0,47 bis 0,36 mg heruntergeht, von 32 auf 18. Es scheint also, daß in der Nähe von 0,47 mg das Maximum der Glykolyse liegt, doch sind die Versuche nicht zahlreich genug, um einen Schluß hinsichtlich der Lage des Maximums zu erlauben.

Daß ein Maximum der Glykolyse existieren muß, ist klar. Wie alle ruhenden Zellen wird auch die ruhende Eizelle nur schwach glykolysieren. Es wäre interessant, den Stoffwechsel während der Entwicklung, ausgehend vom reifen unbefruchteten Ei, zu messen, so wie es für die Entwicklung des Seeigeleis[2]) geschehen ist. Doch ist dies für unseren Fall, da das Material nicht zu beschaffen ist, unmöglich.

[1]) Ein bestimmter Zuwachs an Gewicht entspricht einem verschiedenen Zuwachs an Entwicklungszeit, je nach der Größe des Gewichts. Setzt man die Zunahme des Gewichts in der Zeiteinheit proportional dem Gewicht, so wird die Entwicklungszeit eine lineare Funktion von dem Logarithmus des Gewichts. Q_M jedoch ist, wie man sich überzeugen mag, in keinem Gebiet der Kurve eine lineare Funktion von dem Logarithmus des Gewichts.

[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. **160**, 324, 1915.

Der Höchstwert der für den Rattenembryo gefundenen Glykolyse ist mit den Glykolysewerten der Rattentumoren zu vergleichen. Es ist

	Für das *Flexner-Jobling*sche Rattencarcinom[1])	Für das *Jensen*sche Rattensarkom[2])
Der Mittelwert von $Q_M^{N_2}$	+ 32	+ 33
Der Höchstwert von $Q_M^{N_2}$	+ 40	+ 42

Der Höchstwert der Embryoglykolyse entspricht also ungefähr dem Mittelwert der Tumorglykolyse.

IV. Anaerobe Glykolyse der Hüllen der Fruchtblase.

In sieben Versuchen habe ich die anaerobe Glykolyse der äußeren Haut in Serum gemessen für weit auseinanderliegende Stadien der embryonalen Entwicklung.

Das Ergebnis der Messungen ist in Tabelle II und Abb. 5 zusammengestellt, die experimentellen Einzelheiten findet man in Protokoll 2,

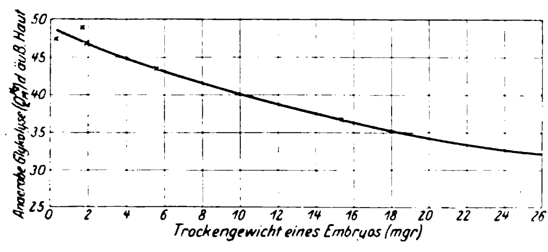


Abb. 5.

Abschnitt VII. Zur Kennzeichnung des Entwicklungsstadiums ist immer das Trockengewicht des Embryos angegeben, von dem die Haut der Fruchtblase stammte; dasselbe Gewicht, nicht das Gewicht der Haut, ist in Abb. 5 als Abszisse gewählt.

Tabelle II.

Anaerobe Glykolyse der äußeren Haut der Fruchtblase in Serum. 38°.

Nr.	Gewicht des Embryos mg	$Q_M^{N_2}$	Milchsäurebildung in Proz. des Gewebetrockengewichts pro Std.	Nr.	Gewicht des Embryos mg	$Q_M^{N_2}$	Milchsäurebildung in Proz. des Gewebetrockengewichts pro Std.
1	250	28,3	11,4	5	1,87	46,8	18,8
2	250	27,2	11,0	6	1,71	48,9	19,6
3	15,4	36,8	14,8	7	0,35	47,5	19,1
4	5,59	43,4	17,4				

[1]) *S. Minami*, diese Zeitschr. **142**, 346, 1923.
[2]) *Y. Okamoto*, ebendaselbst **160**, 61, 1925.

Die größte Glykolyse der Haut wurde bei einem Embryogewicht von 1,7 mg gefunden, nämlich $Q_M^{N_2} = 48,9$, was einer Milchsäurebildung von 19,6 Proz. des Hautgewichtes pro Stunde entspricht. Steigt das Embryogewicht von 1,7 auf 250 mg, so fällt die Glykolyse $Q_M^{N_2}$ der Haut von 48,9 auf 28,3. Hierbei ist die Abnahme der Hautglykolyse für einen gleichen Zuwachs an Embryogewicht um so kleiner, je schwerer (älter) der Embryo ist. Stimmt die Kurve der Abb. 5 in dieser Beziehung mit der Kurve der Abb. 4 überein, so unterscheidet sie sich von ihr durch einen flacheren Verlauf. Die Glykolyse der Haut nimmt mit fortschreitender Entwicklung langsamer ab, als die Glykolyse des Embryos.

Die Glykolyse der Haut ist mit der Glykolyse der Tumoren zu vergleichen. Der Höchstwert der Hautglykolyse (48,9) liegt weit über dem Mittelwert der Tumorglykolyse (32) und beträchtlich über dem Höchstwert der Tumorglykolyse (41).

Mit der inneren Hülle der Fruchtblase wurde nur *ein* Versuch angestellt. Bei einem Embryogewicht von 60 mg wurde die Glykolyse $Q_M^{N_2}$ gleich 35,8 gefunden, also gleichfalls sehr hoch und dem Höchstwert der Tumorglykolyse nahekommend. Das Protokoll findet man in Abschnitt VII unter Ziffer 3.

V. Aerobe Glykolyse embryonalen Gewebes.

Die meisten normalen Rattengewebe zeigen in Ringerlösung unter aeroben Bedingungen keine oder nur eine sehr kleine aerobe Glykolyse. So war $Q_M^{O_2}$ für Niere, Pankreas, Submaxillaris und Thyreoidea in Ringerlösung Null[1]), für Leber etwa 1. Abweichend verhielt sich Hoden[2]), für den in Ringerlösung $Q_M^{O_2}$ gleich 7 gefunden wurde. Dabei war — trotz großer Atmung — die anaerobe und die aerobe Glykolyse fast gleich, die Atmung also kaum imstande, Milchsäure zum Verschwinden zu bringen.

Sowohl die kleine aerobe Glykolyse der Leber, als auch die große aerobe Glykolyse des Hodens verschwindet, wenn man die Ringerlösung durch Serum ersetzt, nicht etwa, weil die Atmung in Serum erheblich größer ist, als in Ringerlösung, sondern weil die Atmung in Serum wirksamer ist. Ringerlösung schädigt die Hodenzellen so, daß der *Meyerhof*sche Kreislauf der Milchsäure unterbrochen wird. Aus dem Verhalten des Hodens und der Leber in Serum ist zu schließen, daß Hoden und Leberzellen in vivo aerob nicht glykolysieren.

Wie Hoden verhalten sich Rattenembryonen von einigen Milligrammen Gewicht. Sie glykolysieren aerob in Ringerlösung, trotz großer Atmung, glykolysieren aber nicht aerob in Serum (vgl. die

[1]) Diese Zeitschr. 152, 329, 1924.
[2]) Ebendaselbst 152, 331, 1924.

Versuche 1, 2 und 7 der Tabelle III). In diesem Falle ist die schädigende Wirkung der Ringerlösung äußerlich erkennbar, die vorher durchsichtigen Embryonen werden in Ringerlösung weißlich und sehen geronnen aus.

Tabelle III.
Aerobe Glykolyse in Serum, Fruchtwasser und Ringerlösung bei 38°.

Nr.	Medium	Gewicht eines Embryos mg	$Q_M^{O_2}$	Q_{O_2}
		Embryonen.		
1	Serum	2,55	0	—
2	„	2,50	0	—
3	„	0,67	8,2	—
4	„	0,46	15,9	—
5	„	0,11	12,8	—
6	Fruchtwasser	0,51	9,5	—
7	Ringerlösung	2,40	6,7	— 14,3
		Äußere Haut der Fruchtblase.		
8	Serum	6,00	0	—
9	„	2,30	0	—
10	„	0,80	0	—
11	„	15,4	0	— 14,4
12	„	5,6	1,5	— 12,7
13	Ringerlösung	0,57	+ 10,2	— 12,2

Wie Hoden verhält sich auch die äußere Haut der Fruchtblase. Sie glykolysiert aerob in Ringerlösung, aber nicht oder nur sehr wenig in Serum (vgl. die Versuche 8 bis 13 der Tabelle III).

Dagegen fand ich, daß kleine Embryonen, von 1 mg Gewicht und darunter, nicht nur in Ringerlösung, sondern auch in Serum aerob glykolysieren (vgl. die Versuche 3 bis 5 der Tabelle III). Ist diese aerobe Glykolyse ein physiologischer Vorgang oder ist auch sie die Folge schädigender Versuchsbedingungen?

Zunächst wurde geprüft, ob die aerobe Glykolyse kleiner Embryonen verschwindet, wenn man das Serum durch Fruchtwasser ersetzt. Das war nicht der Fall (vgl. Versuch 6 der Tabelle III). Weiterhin wurde, um die Versuchsbedingungen physiologischer zu gestalten, der Stoffwechsel der Embryonen bei uneröffneter Fruchtblase gemessen. Unter solchen Bedingungen war — auch für kleine Embryonen — die aerobe Glykolyse sehr klein bzw. Null (vgl. Tabelle IV). Wurde aber die

Tabelle IV. Aerober Stoffwechsel in Serum bei 38°.

Nr.	Gewicht eines Embryos mg	Fruchtblase intakt		Fruchtblase zerstört	
		Q_{O_2}	Q_S	Q_{O_2}	Q_S
1	3,10	— 12,5	+ 12,2	— 13,3	+ 14,4
2	1,10	— 10,6	+ 9,2	— 10,5	+ 11,0
3	1,00	— 14,6	+ 15,8	— 13,6	+ 17,8
4	0,90	— 13,3	+ 13,2	— 11,8	+ 15,1

Fruchtblase zerstört, so trat immer eine aerobe Glykolyse auf, die um so stärker war, je kleiner die Embryonen (vgl. Tabelle IV). Die experimentellen Einzelheiten zu Tabelle IV findet man in Protokoll 4 des Abschnittes VII).

Die geschilderten Versuche machen es wahrscheinlich, daß Rattenembryonen in keinem Stadium der Entwicklung in vivo aerob glykolysieren. Offenbar sind Embryonen früher Entwicklungsstadien besonders empfindlich und werden schon geschädigt, wenn man sie frei beweglich in Serum oder Fruchtwasser schüttelt.

VI. Aerobe Glykolyse der Froschretina.

Zu den Geweben, die unter unseren Versuchsbedingungen aerob stark glykolysieren, gehört auch die Warmblüterretina. Wir haben mit Netzhäuten von Kaninchen, Meerschweinchen, Hühnern und Ratten experimentiert und überall ungefähr dieselben Verhältnisse angetroffen. Beispielsweise fanden wir für die Netzhaut der Ratte[1]) bei 38°:

$$Q_{O_2} = -30{,}7 \,.\, Q_M^{N_2} = +88 \,.\, Q_M^{O_2} = +45 \,.\, \frac{Q_M^{O_2}}{Q_{O_2}} = -1{,}5.$$

Die aerobe Glykolyse ist groß ($Q_M^{O_2} = 45$ bedeutet eine Milchsäurebildung von 18 Proz. pro Stunde). Sie verschwindet nicht, wenn wir die Ringerlösung durch Serum oder Plasma ersetzen.

Wenn wir trotzdem glauben, daß die Netzhaut in vivo aerob nicht glykolysiert, so beruht diese Meinung auf Versuchen mit Kaltblüternetzhäuten. Für die Netzhaut des Frosches fand ich in Ringerlösung (vgl. Protokoll 5, Abschnitt VII) bei 20°:

$$Q_{O_2} = -3{,}5 \,.\, Q_M^{N_2} = +9{,}5 \,.\, Q_M^{O_2} = +0{,}66 \,.\, \frac{Q_M^{O_2}}{Q_{O_2}} = -0{,}19.$$

Die Atmung und die anaerobe Glykolyse der Froschretina bei 20° betragen hiernach rund $^1/_9$ von der Atmung und der anaeroben Glykolyse der Rattenretina bei 38°; die aerobe Glykolyse der Froschretina ist unverhältnismäßig kleiner und beträgt nur $^1/_{70}$ der aeroben Glykolyse der Rattenretina. In der Froschretina bringt die Atmung fast die ganze anaerobe Milchsäurebildung zum Verschwinden.

Da es unwahrscheinlich ist, daß sich die Netzhäute von Warmblütern und Kaltblütern prinzipiell verschieden verhalten, wir außerdem wissen, daß jede Schädigung das aerobe Auftreten von Milchsäure begünstigt, so nehmen wir an, daß weder die Kaltblüter- noch Warmblüternetzhaut in vivo aerob glykolysiert. Offenbar ist die Warmblüternetzhaut empfindlicher und wird durch unsere Versuchsbedingungen stärker geschädigt, als die Kaltblüternetzhaut.

---

[1]) Diese Zeitschr. 152, 333, 1924.

VII. Protokolle.

Protokoll 1.

Rattenembryonen in Serum bei 38°, 5proz. CO_2—N_2.
Die Gewichte sind Trockengewichte.

Nr.	Zahl der Embryonen	Gesamtgewicht der Embryonen mg	Gewicht *eines* Embryos mg	Gefäßvolumina v_F ccm	v_G ccm	$k_{CO_2}^{Ringer}$	$\left(\frac{\Delta u}{\Delta p}\right)_M$	k_M *)	h_{CO_2} nach 30 Min. mm	x_M **) cmm	$Q_M^{N_2}$ †)
1	1	10,6	10,6	1,0	19,5	1,77	0,18	1,95	+ 20,5	40	7,5
2	2	9,8	4,89	1,0	19,5	1,77	0,18	1,95	+ 27,0	52,7	10,8
3	1	4,89	4,89	1,1	19,4	1,76	0,22	2,00	+ 13,0	26	10,6
4	1	4,75	4,75	1,0	19,5	1,77	0,18	1,95	+ 11,5	22,4	9,5
5	2	5,24	2,62	1,2	19,3	1,76	0,22	2,02	+ 13,0	26,3	10,0
6	2	4,95	2,48	1,1	19,4	1,76	0,29	2,08	+ 18,0	37,5	15,1
7	3	5,63	1,88	3,0	10,64	1,10	0,195	1,69	+ 28,0	47,3	16,8
8	2	3,73	1,87	1,1	19,5	1,77	0,27	2,07	+ 13,0	27,0	14,5
9	5	2,87	0,57	3,0	10,5	1,09	0,194	1,67	+ 23,5	39,3	27,3
10	3	1,40	0,47	1,1	19,4	1,76	0,40	2,20	+ 10,2	22,4	32,0
11	5	1,94	0,39	1,1	19,4	1,76	0,40	2,20	+ 11,7	25,7	26,3
12	4	1,42	0,36	1,0	19,3	1,75	0,35	2,10	+ 6,1	12,8	18,0

Protokoll 2.

Äußere Haut der Fruchtblase in Serum bei 38°, 5proz. CO_2—N_2.
Die Gewichte sind Trockengewichte.

Nr.	Gewicht eines Embryos mg	Anzahl der Häutchen	Gesamtgewicht der Häutchen mg	Gefäßvolumina und Ringerkonstante v_F ccm	v_G ccm	$k_{CO_2}^{Ringer}$	$\left(\frac{\Delta u}{\Delta p}\right)_M$	k_M *)	h_{CO_2} nach 30 Min. mm	x_M **) cmm	$Q_M^{N_2}$ †)
1	250	<1	1,22	1,1	19,5	1,77	0,35	2,16	+ 8,0	17,2	28,3
2	250	<1	1,03	1,1	19,4	1,76	0,35	2,15	+ 6,5	14,0	27,2
3	15,4	2	5,33	3,0	10,6	1,10	0,195	1,69	+ 58	98	36,8
4	5,59	3	3,66	3,0	10,5	1,09	0,194	1,67	+ 47,5	79	43,4
5	1,87	5	3,16	1,1	19,4	1,76	0,32	2,11	+ 35,0	74	46,8
6	1,71	3	1,73	1,1	19,4	1,76	0,37	2,17	+ 19,5	42,3	48,9
7	0,35	5	1,00	1,1	19,4	1,76	0,40	2,20	+ 10,8	23,8	47,5

Protokoll 3.

Innere Haut der Fruchtblase in Serum bei 38°, 5proz. CO_2—N_2.
Die Gewichte sind Trockengewichte.

60	4	1,12	1,1	19,4	1,76	0,32	2,11	+ 9,5	20,0	35,8

*) $k_M = k_{CO_2}^{Ringer} + v_F \left(\frac{\Delta u}{\Delta p}\right)_M$.

**) $x_M = h_{CO_2} \cdot k_M$.

†) $Q_M = \frac{x_M}{\text{Milligramm Gewebe . Stunden}}$.

Protokoll 4.

Fruchtblase (Embryo und Häute) in Serum bei 38°. 5 Proz. CO_2—O_2. Die Gewichte sind Trockengewichte.

Nr.	Gewicht eines Embryos mg	Anzahl der Embryonen	Gesamtgewicht der Embryonen und Häute mg	Gefäßvolumina v_F ccm	Gefäßvolumina v_G ccm	Ringerkonstanten für O_2	Ringerkonstanten für CO_2	$\left(\frac{\Delta u}{\Delta p}\right)_C$	Serumkonstanten*) für Kohlensäure	Beobachtete Druckänderungen mm nach 30 Min. Fruchtblase intakt	Beobachtete Druckänderungen mm nach 30 Min. Fruchtblase zerstört	Fruchtblase intakt Q_{O_2}**)	Fruchtblase intakt Q_S**)	Fruchtblase zerstört Q_{O_2}**)	Fruchtblase zerstört Q_S**)
1	3,10	2	6,38	3,0	8,70	$k_{O_2} = 0{,}77$	$k_{CO_2} = 0{,}93$	0,10	$k_{CO_2} = 1{,}23$	$h = -20{,}5$	$h = -18{,}0$	— 12,5	+ 12,2	— 13,3	+ 14,4
		2	6,01	7,0	6,39	$K_{O_2} = 0{,}58$	$K_{CO_2} = 0{,}95$		$K_{CO_2} = 1{,}65$	$H = -43{,}0$	$H = -43{,}0$				
2	1,10	2	2,14	3,0	10,50	$k_{O_2} = 0{,}93$	$k_{CO_2} = 1{,}09$	0,10	$k_{CO_2} = 1{,}39$	$h = -5{,}0$	$h = -3{,}5$	— 10,6	+ 9,2	— 10,5	+ 11,0
		2	2,30	7,0	6,39	$K_{O_2} = 0{,}58$	$K_{CO_2} = 0{,}95$		$K_{CO_2} = 1{,}65$	$H = -14{,}5$	$H = -13{,}0$				
3	1,00	4	4,05	3,0	10,50	$k_{O_2} = 0{,}93$	$k_{CO_2} = 1{,}09$	0,10	$k_{CO_2} = 1{,}39$	$h = -8{,}7$	$h = -3{,}5$	— 14,6	+ 15,8	— 13,6	+ 17,8
		3	2,95	7,0	6,39	$K_{O_2} = 0{,}58$	$K_{CO_2} = 0{,}95$		$K_{CO_2} = 1{,}65$	$H = -23{,}0$	$H = -18{,}5$				
4	0,90	2	1,70	3,0	10,5	$k_{O_2} = 0{,}93$	$k_{CO_2} = 1{,}09$	0,10	$k_{CO_2} = 1{,}39$	$h = -4{,}0$	$h = -1{,}5$	— 13,3	+ 13,2	— 11,8	+ 15,1
		2	1,89	7,0	6,39	$K_{O_2} = 0{,}58$	$K_{CO_2} = 0{,}95$		$K_{CO_2} = 1{,}65$	$H = -14{,}0$	$H = -10{,}5$				

*) $k_{CO_2} = k_{CO_2}^{\text{Ringer}} + 3\left(\frac{\Delta u}{\Delta p}\right)_C$

$K_{CO_2} = K_{CO_2}^{\text{Ringer}} + 7\left(\frac{\Delta u}{\Delta p}\right)_C$.

**) $Q_{O_2} = \frac{x_{O_2}}{\text{Milligramm Gewebe . Stunden}}$, wo $x_{O_2} = \frac{h k_{CO_2} - H K_{CO_2}}{\frac{k_{CO_2}}{k_{O_2}} - \frac{K_{CO_2}}{K_{O_2}}}$

$Q_S = \frac{x_S}{\text{Milligramm Gewebe . Stunden}}$, wo $x_S = \frac{h k_{O_2} - H K_{O_2}}{\frac{k_{O_2}}{k_{CO_2}} - \frac{K_{O_2}}{K_{CO_2}}}$.

Protokoll 5.

Froschretina in Ringerlösung. 0,2 Proz. Glucose.

c_{NaHCO_3} **= 2,5 . 10⁻² Mole/Liter. 20°.** Dunkel.

Gasraum	Anzahl der Netzhäute	Gesamtgewicht der Häute	Gefäßvolumina		Gefäßkonstanten		In 45 Min. beobachtete Druckänderung	Q_{O_2}	Q_S	$Q_M^{N_2}$	$Q_M^{O_2}$
			v_F	v_G	für O_2	für CO_2					
		mg	ccm	ccm			mm				
5 Proz. CO_2–O_2	2	5,66	3,0	10,54	0,99	1,25	$h = -1,0$	−3,5	+4,16		+0,66
	2	5,86	8,0	5,64	0,55	1,22	$H = -13,0$				
5 Proz. CO_2–N_2	2	5,21	3,0	9,28	—	1,13	$h_{CO_2} = +33,0$		+ 9,5	+9,5	

Die Oberflächenspannung von Serum.

Über physikalisch-chemische Änderungen im Serum als Folge der Immunisierung.

Von

P. Lecomte du Noüy.

(Aus den Laboratorien des Rockefeller Institute for Medical Research, New York.)

(Eingegangen am 2. September 1925.)

Mit 21 Abbildungen im Text.

Die verzögernde Wirkung von Antigeninjektionen auf die statische Oberflächenspannung des Serums von Kaninchen ist bereits früher[1]) in dieser Zeitschrift beschrieben worden, wobei auch gezeigt wurde, daß der „Zeitabfall" (Differenz zwischen dem Anfangswert der Oberflächenspannung der Lösung und ihrem Werte, nachdem dieselbe 2 Stunden in Uhrgläschen gestanden hat) sich vergrößerte parallel zum Antikörpergehalt[2]). Es wurden ferner Kurvendiagramme veröffentlicht, die den ansteigenden Wert des Zeitabfalls nach einer bestimmten Zeit und den Maximalwert zwischen dem 12. und 13. Tage nach der ersten Injektion erkennen ließen. In diesen ersten Versuchen wurden die Tiere (Kaninchen) mit verschiedenen Proteinen und Pockenvirus behandelt, was mit Ausnahme der Pockenimpfung drei- und mehrmals geschah. Seitdem erhob sich die Frage, ob dasselbe Phänomen eintritt, wenn das Tier nur einer einzigen Injektion von Antigen unterworfen wird, und ob das Maximum nach derselben Anzahl von Tagen und unter demselben Ordinatenwert in Erscheinung tritt, ferner ob der Abfall des Abszissenwertes eine Funktion der injizierten Antigenmenge ist. Weiterhin wurde die Frage gestellt, ob eine erneute Injektion, gerade nachdem der Gipfel der Kurve erreicht (am 13. Tage) worden ist, das Phänomen verstärken oder den Abfall verzögern würde, und schließlich, ob die verhältnismäßige Vermehrung der Globuline eines Immunserums, wie sie von einigen Autoren beobachtet wurde, für die Änderung der Oberflächenspannung verantwortlich ist. Die nachfolgend beschriebenen Versuche haben hauptsächlich den Zweck, Antworten auf obige Fragen zu geben.

---

[1]) *P. L. du Noüy*, diese Zeitschr. **155**, 113, 1925.
[2]) *Derselbe*, Journ. f. exper. Med. **37**, 659, 1923; **40**, 129, 1924.

Experimenteller Teil.

Zwölf Kaninchen wurden verwendet, davon sechs zu Kontrollversuchen. Alle diese Tiere wurden vor der Injektion 2 Monate lang beobachtet, um sicherzustellen, daß sie normal sind, nämlich einen Zeitabfall unter 10 Dynen aufweisen[1]). Nachdem man sich dessen versichert hatte, wurden sie intravenös mit einer von Dr. *Landsteiner* aus zerriebenem Pferdenierenantigen durch Aufschwemmen in der zehnfachen Menge Kochsalzlösung (+ 0,5 Proz. Phenol) bereiteten Suspension injiziert. Dieses Antigen wurde wegen seiner Unschädlichkeit und gleichmäßigen Wirkung gewählt. In früheren, ähnlichen Versuchen traten unter Anwendung von anderen Antigenen Störungen auf, die gelegentlich zu Mißerfolgen führten. Da eines der Tiere einging, gerade als das Experiment angefangen wurde, waren nur noch fünf und die Kontrolltiere am Leben.

Kaninchen Nr. 1 erhielt . . . . . . 4 ccm Antigen
„ „ 2 und 3 erhielten . . 5 „ „
„ „ 7 „ 8 „ . . 10 „ „

Alle wurden natürlich im gleichen Ernährungszustande erhalten. Jeden zweiten Tag wurden Messungen angestellt. In der folgenden Tabelle sind die Blutentnahmen mit Kreuzen bezeichnet.

Es ist leicht zu ersehen, daß die Blutentnahmen der Kontroll- und Versuchstiere abwechselnd gemacht wurden, nur mit Ausnahme des 12. und 13. Tages, wenn das Maximum des Phänomens erwartet wurde. Der Grund dafür, daß Messungen nicht jeden Tag angestellt wurden, lag daran, daß die Tiere durch zu starken Blutverlust beeinträchtigt werden könnten und wegen technischer Schwierigkeiten. Es muß daran erinnert werden, daß in jedem Falle 17 verschiedene Verdünnungen des Serums hergestellt wurden. Dies allein erforderte eine beträchtliche Anzahl Glasgefäße, abgesehen davon, daß sie mit großer Sorgfalt zu reinigen waren. Da zwei Messungen der Oberflächenspannung nötig waren (in einem Zeitraum von 2 Stunden), so betrug die Zahl der Ablesungen für jedes Serum 34. Wenn alle Sera untersucht wurden, wie am 12. und 13. Januar, wurden an einem Tage 374 Messungen der Oberflächenspannung gemacht. Diese Leistung konnte 2 Tage lang gemacht werden, wäre aber für eine längere Zeitperiode äußerst schwierig und wurde als überflüssig erachtet. Tatsächlich erforderten die oben angegebenen Versuche im ganzen 4420 Messungen der Oberflächenspannung. Dies war nur durch gleichzeitigen Gebrauch von drei Tensiometern auf den schon vorher beschriebenen Tischen möglich, wobei jeder der Tische für 44 Uhrgläschen diente.

---

[1]) *P .L. du Noüy*, Journ. f. exper. Med. **37**, 659, 1923; **40**, 129, 1924.

Januar:	Kontrolle 1	Kontrolle 2	Kontrolle 3	Kontrolle 4	Kontrolle 5	Kontrolle 6	Versuche 7	Versuche 8	Versuche 9	Versuche 10	Versuche 11
5.	×	×	×				×	×			
6.				×	×	×			×	×	×
7.	×	×	×				×	×			
8.				×	×	×			×	×	×
9.	×	×	×				×	×			
10.											
11.											
12.	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
13.	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
14.											
15.				×	×	×			×	×	×
16.	×	×	×				×	×			
17.											
18.											
19.				×	×	×			×	×	×
20.	×	×	×				×	×			
21.				×	×	×			×	×	×
22											
23.	×	×	×				×	×			
24.											
25.											
26.				×	×	×			×	×	×
27.	×	×	×				×	×			
28.				×	×	×			×	×	×

Die 17 verschiedenen Verdünnungen eines jeden Serums wurden gemacht, weil es wichtig war festzustellen, ob das absolute Minimum der statischen Oberflächenspannung immer bei derselben Verdünnung in Erscheinung tritt, oder ob kleine Verschiebungen wahrnehmbar sind, entweder aus unbekannten Gründen oder sonst als Folge der Antigeninjektion. Daher wurden die folgenden Verdünnungen untersucht: $^1/_{10}$, $^1/_{100}$, $^1/_{1000}$, $^1/_{7500}$, $^1/_{8000}$, $^1/_{8500}$, $^1/_{9000}$, $^1/_{9500}$, $^1/_{10\,000}$ $^1/_{10\,500}$, $^1/_{11\,000}$, $^1/_{11\,500}$, $^1/_{12\,000}$, $^1/_{12\,500}$, $^1/_{13\,000}$, $^1/_{100\,000}$ und $^1/_{1\,000\,000}$. Der Abstand zwischen $^1/_{7500}$ und $^1/_{13\,000}$ entspricht annähernd einer Proteinverdünnung von $^1/_{105\,000}$ und $^1/_{182\,000}$. Z. B. der Übergang der Verdünnung von $^1/_{10\,000}$ zu $^1/_{10\,500}$ würde einem Unterschied der Dicke der monomolekularen Schicht von ungefähr $2{,}2 \cdot 10^{-8}$ cm entsprechen. Die Dicke der monomolekularen Schicht von Kaninchenserum ist ungefähr $41 \cdot 10^{-8}$ cm[1]). Das bedeutet, daß ein Unterschied von etwa 5 Proz. der Dicke beobachtet werden kann. Unter den gegenwärtigen Umständen, mit Berücksichtigung der Fehler, die während des Zeitraumes von 3 Monaten durch eine Änderung der Proteinkonzentration entstehen können, kann dies als das Maximum der Genauigkeit betrachtet werden. Der Mittelwert der Konzentration, bei welcher das Minimum eintrat, war $^1/_{10517}$ bei den Versuchen und $^1/_{10390}$ bei den Kontrollen. Es ist ersichtlich, daß nach der Immunisierung keine konstante Änderung eintritt und

[1]) *P. L. du Noüy*, Journ. f. exper. Med. 41, 133, 1924.

daß die Unterschiede nur experimentellen Fehlern zuzuschreiben sind. Daher kann festgestellt werden, daß kein Unterschied in einer bestimmten Richtung größer als 5 Proz. in Erscheinung tritt in der durchschnittlichen Länge der Proteinmoleküle nach der Immunisierung. Aus Gründen der Klarheit und Einfachheit werden hier Kurven an Stelle von Tabellen benutzt, um die Ergebnisse auszudrücken. In all diesen Kurven ist nur der absolute Minimumwert der Oberflächenspannung nach 2 Stunden von Lösungen, die der monomolekularen Schicht des Serums entsprechen, angegeben. Die Verminderung dieses Wertes und die Anwesenheit eines Minimums zwischen dem 12. und dem 16. Tage sind leicht ersichtlich (Abb. 1 bis 5).

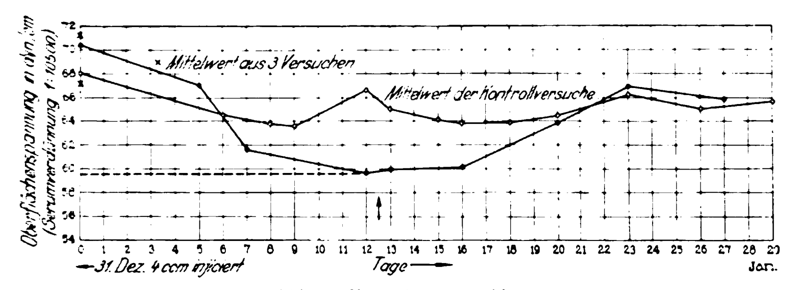


Abb. 1. Kaninchenserum Nr. 1.

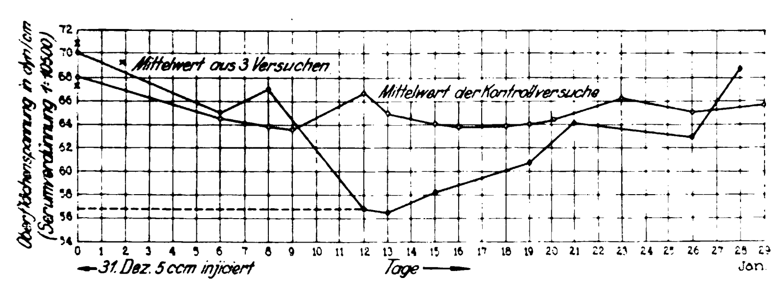


Abb. 2. Kaninchenserum Nr. 2.

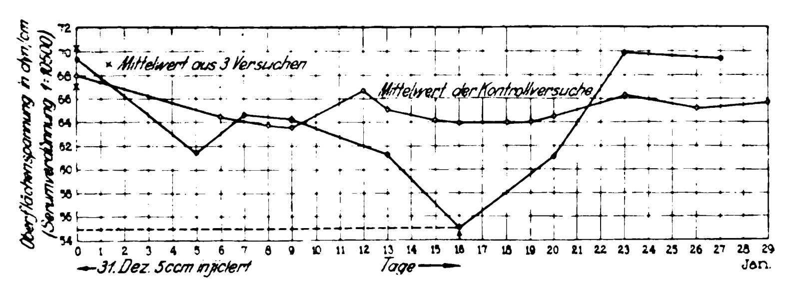


Abb. 3. Kaninchenserum Nr. 3.

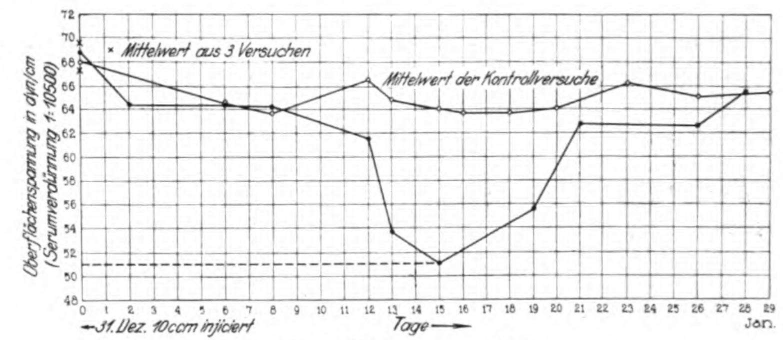


Abb. 4. Kaninchenserum Nr. 4.

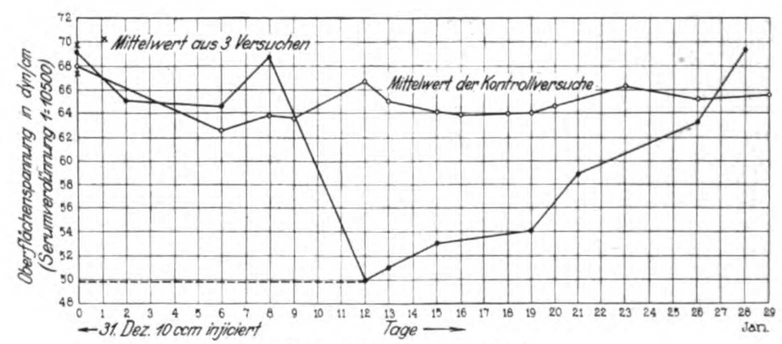


Abb 5. Kaninchenserum Nr. 5.

Abb. 1, 2, 3, 4 und 5. Statischer Wert nach 2 Stunden von Serumlösungen und der Konzentration, die mit der monomolekularen Lage in Funktion von Zeit in Tagen übereinstimmt. Die obere Kurve ist der Durchschnittswert der Kontrolle.

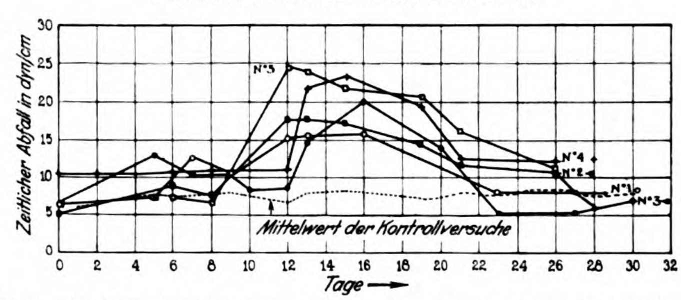


Abb. 6. Zeitabfall nach 2 Stunden von Serum Nr. 1, 2, 3, 4 und 5 und Kontrollkurve.

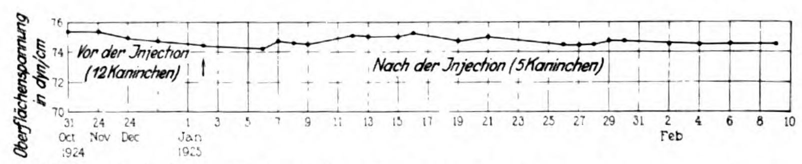


Abb. 7. Durchschnittswert der Anfangsoberflächenspannung vor und nach Immunisierung. Zeigt sehr deutlich, daß der Zeitabfall auf eine tatsächliche Verminderung des statischen Wertes der Oberflächenspannung zurückzuführen ist. Verdünnung 1 : 10 500.

In der Abb. 6 ist der Zeitabfall, d. h. der Unterschied zwischen dem Minimumwert nach 2 Stunden und dem Anfangswert, zusammen mit dem Durchschnittswert des Kontrollversuchs dargestellt. Man sieht, daß, obgleich das Maximum im allgemeinen am 13. Tage erscheint, es in zwei Fällen am 15. und 16. Tage eintrat. Dies ist aber sehr ausnahmsweise der Fall.

Am 15. Tage erhielten Nr. 4 und 5 eine weitere Dosis Antigen, genau wie zuerst, nämlich 10 ccm. Dennoch ist keine Änderung in der Kurve festzustellen. Folglich ist der vermehrte Zeitabfall nicht durch Anwesenheit von Antigen im Blute bedingt.

Aussehen der Abdampfrückstände. Nachdem die Lösungen am 12. und 13. Tage verdunstet waren, wurde in den Uhrgläschen ein sehr auffallendes Phänomen beobachtet. Während die Kontrollversuche das gewöhnliche Aussehen hatten wie Abb. 8—11, zeigten die Sera der Immuntiere an einer gewissen Verdünnung eine eigentümliche, charakteristische Struktur von großen Kristallen (Abb. 12—19). Diese eigenartige Kristallanordnung des Natriumchlorids der physiologischen Kochsalzlösung hatten wir vorher nie beobachtet, weil in unseren früheren Versuchen nur Lösungen von $^1/_{1000}$, $^1/_{10\,000}$ und $^1/_{100\,000}$ untersucht worden waren ohne dazwischen liegende Stufen. Dieses Phänomen tritt nur bei einer sehr bestimmten Konzentration ein, nämlich derjenigen, die mit dem absoluten Minimumwert der statischen Oberflächenspannung übereinstimmt. Abb. 20 ist eine im polarisierten Lichte aufgenommene Mikrophotographie eines Kontrollversuchs, während Abb. 21 ein unter gleichen Bedingungen aufgenommenes Bild von immunisiertem Serum zeigt. Der Unterschied in der Struktur ist leicht erkenntlich.

Relative Konzentration von Globulin und Albumin. Eine weitere Reihe von Experimenten mit verschiedenen Antigenen wurde ausgeführt, um den Albumin- und Globulingehalt vor und nach Immunisation zu bestimmen. Eine Serie von sehr sorgfältig ausgeführten Analysen wurde im Laboratorium von Dr. *L. Baker* unternommen, welche zeigten, daß in keinem von unseren Versuchen ein Ansteigen des relativen Globulingehalts am 13. Tage zu bemerken war. Die nach der Immunisierung beobachteten Verschiedenheiten sind von derselben Größenordnung wie diejenigen der Kontrollversuche. Es folgt daraus, daß der vermehrte Zeitabfall (oder absolute Verminderung des statischen Wertes der Oberflächenspannung) nicht auf eine Änderung der relativen Konzentration der Proteine oder des Serums zurückzuführen ist.

Diskussion.

Aus den oben beschriebenen Versuchen geht hervor, daß eine ausgiebige Reaktion im Serum der Tiere stattfand, die Antigeninjektionen unterworfen wurden. Diese Reaktion beginnt ungefähr am 8. Tage nach der Injektion, das Kraftfeld der Moleküle einiger der Proteinbestandteile des Serums zu beeinflussen. Die Störung, die

durch diese Reaktion eintritt, erreicht ein Maximum zwischen dem 12. und 16. Tage, hauptsächlich zwischen dem 12. und 13. Tage. Dann tritt eine Verminderung ein und schließliche Rückkehr zur Norm am 30. Tage. Zur Zeit des Maximums ist eine beträchtliche Zahl von Molekülen beteiligt, was aus der auffallenden Wirkung auf die Kristallisierung des Natriumchlorids zu ersehen ist. Die Entwicklung dieses Phänomens, wenn der Zeitabfall als Ordinaten und die Zeit in Tagen als Abszissen dargestellt wird, stimmt nahezu mit den Kurven von *Jörgensen* und *Madsen*[1]) (Auftreten der Antikörper) und von *Fischer*[2]) überein.

Dieses Phänomen scheint nicht einfach die Folge von der Gegenwart des Antigens im Blutkreislauf zu sein, und zwar aus folgenden Gründen:

Erstens tritt das Maximum immer etwa am 13. Tage ein ohne Unterschied, ob das Antigen in einer starken Dosis am 1. Tage oder in vier entsprechend schwächeren Dosen am 1., 5., 8. und 11. Tage injiziert worden ist; zweitens, obgleich dieselbe Menge Antigen einen Tag nach dem erreichten Maximumzeitabfall in das Tier injiziert wurde, war die Entwicklung des Phänomens nicht beeinflußt und es trat keine weitere Zunahme des Zeitabfalls ein. Die Verminderung geht allmählich vor sich bis zum 30. Tage.

Diese Tatsache ist wahrscheinlich von einer Reaktion abhängig, welche auf dem Höhepunkt die molekularen Kraftfelder der Serumproteine weitgehend verändert. Es erhebt sich dann die Frage: ob das Antigen direkt auf das Plasma oder auf die Gewebezellen einwirkt. Die erste Hypothese ist unwahrscheinlich. Da darüber keine Gewißheit besteht, daß das physikalisch-chemische Phänomen direkt mit der Antikörperbildung in Verbindung steht, obgleich die Entwicklung parallel dazu stattfindet, wurde folgender Versuch ausgeführt:

Die Sera von sechs Kaninchen wurden mit verschiedenen Antigenen, in einer Menge, die mit der immunisierenden Dosis übereinstimmte, gemischt und deren Zeitabfall vor und nach Zusatz des Antigens gemessen. Darauf wurden sie im Wärmeschrank in Reagenzgläsern 13 Tage lang unter 37,5° C gehalten. Die sechs Kaninchen wurden dann mit denselben Antigenen immunisiert. Die Kontrollen wurden mit Salzlösungen injiziert, deren Sera in den Reagenzgläsern mit Salzlösung gemischt und zugleich mit den ersteren im Wärmeschrank gehalten. Am 13. Tage wurde der Zeitabfall der Lösungen in den Reagenzgläsern und derjenige der Sera der entsprechenden Versuchstiere ge-

[1]) *A. Jörgensen* und *T. Madsen*, Festkrift ved indvielsen af Statens Seruminstitut, Nr. 6, S. 12. Kopenhagen 1902.

[2]) *A. Fischer*, Journ. f. exper. Med. **36**, 535, 1922.

messen. Zwei Reihen von Ablesungen wurden ausgeführt: bei der einen wurden die Lösungen durch Schütteln des Reagenzglasinhalts (einige der Proben zeigten einen bedeutenden Niederschlag) gewonnen, bei der zweiten Reihe wurde das Absetzen des Niederschlags abgewartet und die überstehende Flüssigkeit verdünnt. Keine Änderung des Zeit. abfalls trat in den Proben ein, während das Serum der Tiere eine sehr entschiedene Zunahme zeigte. Ihr Immunitätszustand wurde durch Hämolysin- und Präzipitinreaktionen nachgewiesen. Danach kann also festgestellt werden, daß *in vitro* keine Reaktion stattfand, die das Kraftfeld der einzelnen Moleküle der Serumbestandteile beeinflußt haben würde, wie das *in vivo* der Fall war. Folglich ist es logisch, anzunehmen, daß die Reaktion zwischen Antigen und Gewebe stattfindet.

Schlußfolgerungen.

1. Die Injektion von Antigen in ein Tier verursacht eine Reaktion, welche man durch zwei physikalisch-chemische Erscheinungen verfolgen kann, nämlich eine Verminderung des statischen Wertes der Oberflächenspannung der Serumlösung und einen Wechsel in dem Aussehen der Chlornatriumkristalle nach Verdunstung der verwendeten Lösung.

2. Diese Reaktion zeigt ein Maximum ungefähr am 13. Tage nach der ersten Injektion, dann tritt eine fortschreitende Abschwächung ein, bis die Reaktion nicht mehr bemerkbar ist, gewöhnlich etwa am 30. Tage.

3. Die Wirkung ist dieselbe, ob eine einzelne große Injektion oder mehrere entsprechend kleinere gemacht wurden. Sie beginnt zur gleichen Zeit, das Maximum tritt im selben Zeitpunkt ein und wird nicht durch eine Nachinjektion einer großen Dosis Antigen beeinflußt. Die Wirkung ist unabhängig von der Gegenwart von Antigen in der Zirkulation.

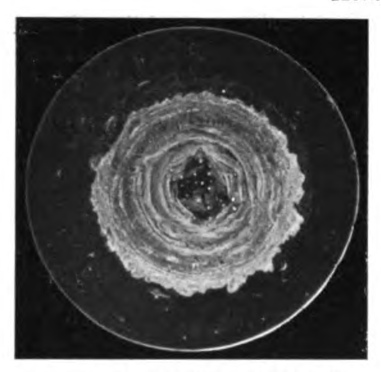
4. Die Durchschnittslänge der Proteinmoleküle des Immunserums ist nicht verschieden von derjenigen des Normalserums, wenigstens um nicht mehr als 5 Proz.

5. Diese Reaktion zwischen Antigen und Serum tritt nicht *in vitro* ein; folglich ist die Mitwirkung von Gewebezellen für die Serumveränderung notwendig.

6. Es ist wahrscheinlich, daß die Reaktion des Tieres von der Antikörperbildung unabhängig ist.

7. Der Wechsel der Verhältnisse von Globulinen zu Albuminen, welcher in einigen Fällen von Immunisierung beobachtet worden ist, wurde in unseren Versuchen nicht beobachtet, und folglich ist das Oberflächenspannungsphänomen unabhängig davon.

Kontrollversuche.



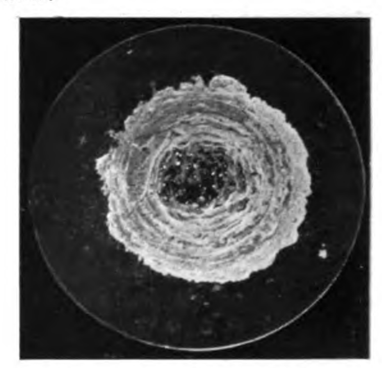
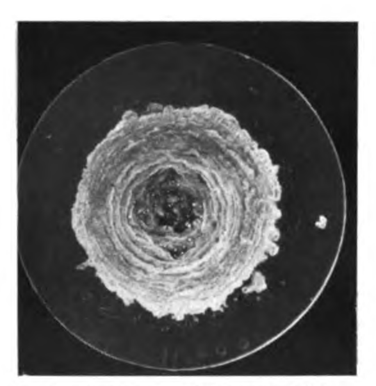


Abb. 8. Serumverdünnung 1 : 10 000. Abb. 9. Serumverdünnung 1 : 10 500.
Kochsalzkonzentration 0,9 Proz.



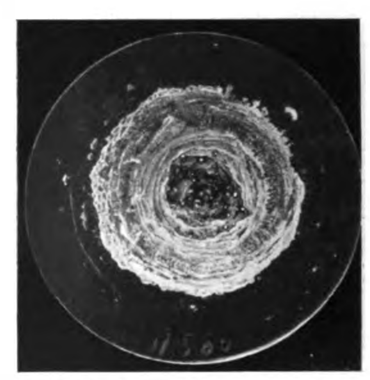
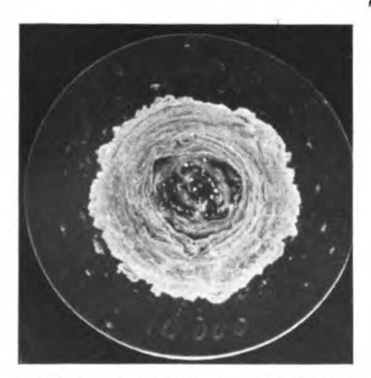


Abb. 10. Serumverdünnung 1 : 11 000. Abb. 11. Serumverdünnung 1 : 11 500.
Kochsalzkonzentration 0,9 Proz.

Immuntiere.



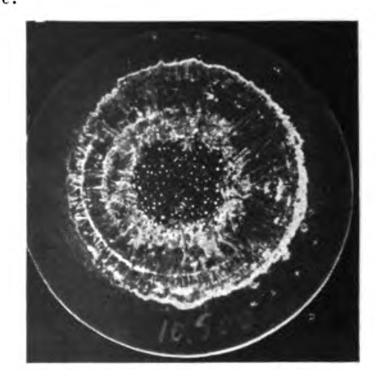
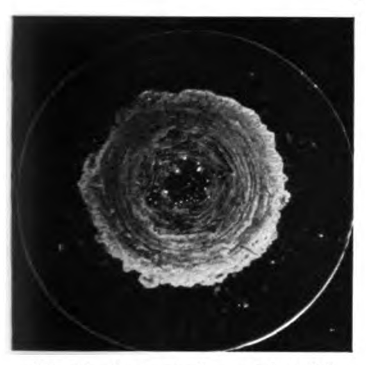


Abb. 12. Serumverdünnung 1 : 10 000. Abb. 13. Serumverdünnung 1 : 10 500.
Kochsalzkonzentration 0,9 Proz.

Immuntiere.



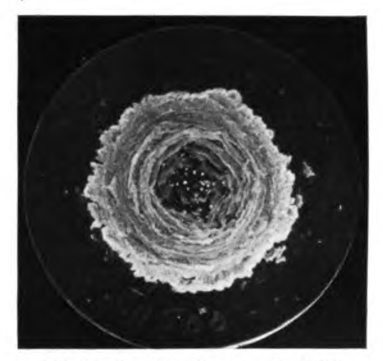
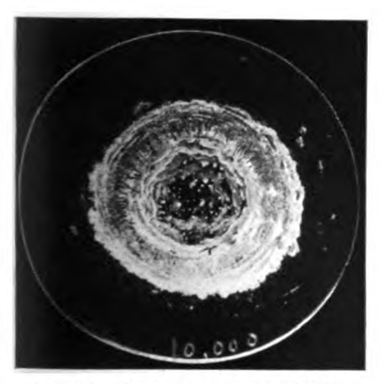


Abb. 14. Serumverdünnung 1 : 11 000. Abb. 15. Serumverdünnung 1 : 11 500.
Kochsalzkonzentration 0,9 Proz.



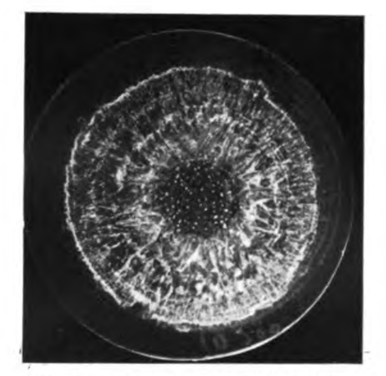
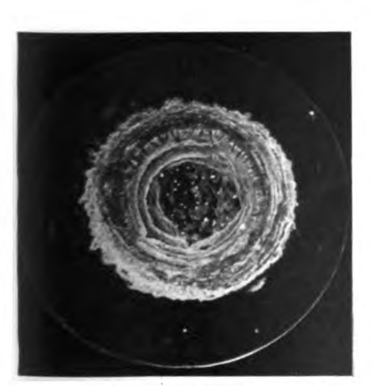


Abb. 16. Serumverdünnung 1 : 10 000. Abb. 17. Serumverdünnung 1 : 10 500.
Kochsalzkonzentration 0,9 Proz.



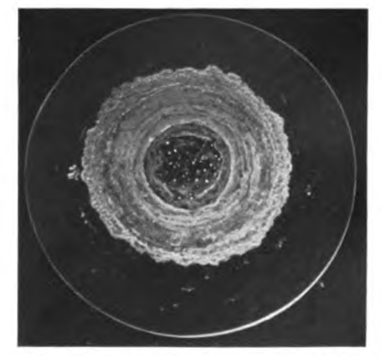


Abb. 18. Serumverdünnung 1 : 11 000. Abb. 19. Serumverdünnung 1 : 11 500.
Kochsalzkonzentration 0,9 Proz.



Abb. 20. Normalserum (Kontrollversuch). Verdünnung 1 : 10 500. Mikr. vergrößert × 10. Polarisiertes Licht.

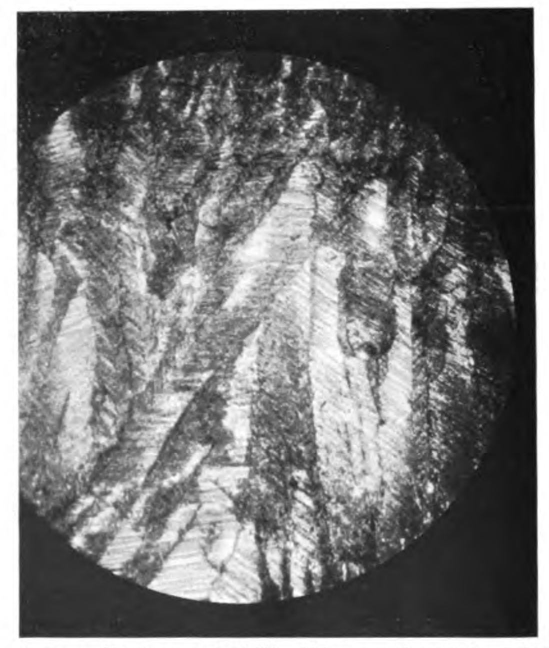


Abb. 21. Immunserum. Verdünnung 1 : 10 500. Mikr. vergrößert × 10. Polarisiertes Licht.

Beiträge zur biochemischen Kenntnis der postmortalen Pflanzenatmung[1].

Von

J. Bodnár und **Piroska Hoffner.**

(Aus dem kgl. ungarischen pflanzenbiochemischen Institut Budapest, aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität Debrecen und aus dem chemischen Institut der Universität Szeged.)

(Eingegangen am 2. September 1925.)

Seit der Entdeckung der Enzyme ist das Hauptbestreben der biochemischen Forschungen, die in dem lebenden Organismus sich abspielenden Dissimilationsvorgänge auf die Wirkung der Enzyme zurückzuführen, und auf Grund dieses können wir die meisten Dissimilationslebensvorgänge als solche chemische Prozesse betrachten, welche sich durch die Wirkung der Enzyme — unabhängig von den Lebenserscheinungen — abspielen.

Aus den grundlegenden Untersuchungen *Palladins* und seiner Schule ist bekannt, daß das auf gewisse äußere Einflüsse hin eintretende Absterben der pflanzlichen Zellen das Aufhören des wichtigsten Dissimilationsprozesses, der Atmung, nicht nach sich zieht; den Tod der Zellen überleben die *Atmungsenzyme*, und durch deren Tätigkeit vollzieht sich die Pflanzenatmung als eine — in ihren Details sehr komplizierte — enzymatische Reaktion.

Für das Studium der pflanzlichen Atmung als eines enzymatischen Prozesses bzw. der postmortalen Atmung empfiehlt *Palladin*[2]) das Erfrierenlassen der pflanzlichen Objekte (Samen, Blätter) im ganzen als ein Verfahren, wodurch die Zellen zu töten sind, ohne daß die Atmungsenzyme vernichtet werden.

In der Enzymologie ist eine oft angewendete Methode das Austrocknen der auf ihre Enzyme zu untersuchenden lebenden Objekte, und man prüft auf Anwesenheit der Enzyme das durch Zerstörung der Zellenstruktur

---

[1]) Die in dieser Mitteilung publizierten Untersuchungen wurden noch in den Jahren 1922/23 durchgeführt.

[2]) *W. Palladin*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **23**, 240, 1905; Zeitschr. f. physiol. Chem. **47**, 407, 1906.

gewonnene Organpulver, Samenmehl usw. In allererster Reihe sind die Samen solche Objekte, welche unter gewissen Bedingungen auch im pulverisierten Zustande stark atmen, und es bilden einige Samenpulver oder Samenmehle als an Atmungsenzymen reiche Objekte ein ausgezeichnetes Untersuchungsmaterial zum Studium des Mechanismus der postmortalen Pflanzenatmung.

Godlewski[1]) war noch der Meinung, daß „die Zerstörung der Zellstruktur der Samen durch Zerreiben derselben eine nahezu vollständige Sistierung der Kohlensäurebildung zur Folge hatte". *Godlewski* untersuchte die Atmung der zerstörten Erbsensamen unter Wasser, wenn wir aber die Samenpulver der Erbsen — wie *Iwanoff*[2]) und *Zaleski*[3]) zuerst fanden — nur mit so viel Wasser vermischen, daß sie gerade durchfeuchtet werden, d. h. breiartig sein sollen, so werden wir eine sehr starke CO_2-Ausscheidung wahrnehmen. *Zaleski* hebt hervor, daß die Samenpulver zum Studium der postmortalen Atmung geeignetere Objekte sind als die im ganzen gefrorenen Samen, denn z. B. die Wirkung der Salzlösungen auf die Atmung ist bei den intakt gefrorenen Samen, umgekehrt wie bei dem Samenpulver — infolge des langsamen Eindringens —, sehr erschwert. Daß die ausgetrockneten und pulverisierten Samen wirklich abgetötete Objekte sind, beweist jener Versuch *Zaleskis*, daß z. B. die CO_2-Ausscheidung des Erbsenpulvers auch nach Behandlung desselben mit Äther oder Aceton keine Verminderung zeigt.

Unsere Kenntnisse bezüglich des Mechanismus der Atmung der Samenpulver (Mehle) sind noch sehr lückenhaft und bieten bei weitem kein eindeutiges Bild von dem rationellen Zusammenhang der postmortalen Atmung mit der lebenden Pflanzenatmung.

Zu allererst beobachtete *Kolkwitz*[4]), daß das grobe Mahlprodukt der Gerstenkörner CO_2 ausscheidet, aber seine Daten sind aus verschiedenen Gründen (lebende Zellen, Bakterien) nicht genügend verläßlich.

Die ersten ausführlichen Untersuchungen bezüglich der Atmung der verschiedenen Samenpulver hat *Iwanoff*[5]) vorgenommen. Er ließ die Samenpulver, mit wenig Wasser zusammengemischt, in Form eines Breies in Gegenwart von Toluol atmen und bemerkte, daß besonders das Erbsenmehl, und zwar nur das Mehl gewisser Erbsensorten (Viktoria, Bismarck), am intensivsten atmet, und das Mehl scheidet mehr CO_2 aus als die lebenden Erbsensamen.

Zaleski und *Reinhard*[6]) haben die CO_2-Ausscheidung der Erbsen-, Weizen-, Lupinen- und Maismehle untersucht und gefunden, daß das Erbsenmehl am intensivsten atmet. Sie behaupten, daß für die Atmung der Samenpulver — im allgemeinen für die postmortale Pflanzenatmung — charakteristisch ist, daß durch Abtötung der Zellen bzw. Zerstören der Zellstruktur die aerobe Atmung stark vermindert wird, die

---

[1]) *E. Godlewski* und *F. Polzeniusz*, Bull. d. l'Acad. des sciences de Cracovie, Avril 1901, S. 249.

[2]) *L. Iwanoff*, diese Zeitschr. **25**, 171, 1910.

[3]) *W. Zaleski* und *A. Reinhard*, ebendaselbst **27**, 450, 1910; **35**, 228, 1911; *W. Zaleski*, ebendaselbst **31**, 195, 1911.

[4]) *R. Kolkwitz*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **19**, 285, 1901.

[5]) *L. Iwanoff*, l. c.

[6]) *W. Zaleski* und *A. Reinhard*, diese Zeitschr. **27**, 450, 1910.

anaerobe Atmung dagegen überlebt den Tod der Zellen, und deshalb atmen die starke anaerobe CO_2-Ausscheidung besitzenden Samen in Form von Samenpulver so intensiv. Auf Grund der Versuche von *Godlewski* und *Polzeniusz*[1]) sind die Erbsensamen als ein typisch anaerobes Objekt bekannt, es ist also das Erbsenmehl als ein sehr intensiv atmendes Objekt besonders dazu geeignet, an ihm den Mechanismus der postmortalen Atmung zu studieren.

Mit dem eingehenden Studium der Atmung des Erbsenmehls hat sich *Iwanoff*[2]) befaßt, die Resultate seiner Versuche und die sich daraus ergebenden Folgerungen kann man im folgenden zusammenfassen:

1. durch Na_2HPO_4-Lösung wird die CO_2-Ausscheidung des Erbsenmehls stark stimuliert;

2. in dem in der Luft atmenden Erbsenmehl wird neben CO_2 auch eine bedeutende Menge Alkohol gebildet,

3. durch die das Coenzym der Zymase enthaltenden Hefanol- und Zyminextrakte wird nicht nur die CO_2-, sondern auch die Alkoholausscheidung des Erbsenmehls stark gehoben, auf Grund dieser Erfahrungen spricht *Iwanoff* die Meinung aus, daß das Erbsenmehl ein der Zymase der Hefe sehr ähnliches Enzym in sehr aktivem Zustande enthält und die Atmung des Erbsenmehls als ein mit der alkoholischen Gärung identischer Prozeß betrachtet werden kann.

Die alkoholische Gärung des Erbsenmehls, wie aus *Iwanoffs* Versuchen hervorgeht, weicht von der von Hefanol verursachten alkoholischen Gärung insofern ab, daß in der Luft bedeutend mehr CO_2 entsteht als im Wasserstoff.

Zaleski und *Reinhard*[3]) fanden dagegen, daß das Erbsenmehl in der Luft ebensoviel CO_2 ausscheidet wie im Wasserstoff. Nach *Iwanoffs* Ansicht stimuliert der Sauerstoff die Atmung nicht direkt, sondern indirekt, und zwar derartig, daß es aus dem im Erbsenmehl befindlichen Zymasezymogen Zymase frei macht, und infolge der Vermehrung der Zymase wird die alkoholische Gärung intensiver und im Endresultat entsteht mehr CO_2. Zum Beweis dieser Voraussetzung soll dieser Versuch *Iwanoffs* dienen, daß von den vorher in der Luft und im Vakuum gehaltenen Erbsenmehlbreien im Vakuum die Atmung der in der Luft gehaltenen Mehlbreie intensiver ist. Wenn die Erhöhung der CO_2-Ausscheidung auf gesteigerte Zymaseproduktion zurückzuführen ist, so muß in der Luft proportional mit der Quantität der CO_2 auch mehr Alkohol entstehen als im Wasserstoff; diesbezüglich hat aber *Iwanoff* keine Versuche ausgeführt.

Mit der stimulierenden Wirkung des Phosphats (Alkaliphosphate) auf die postmortale Pflanzenatmung beschäftigten sich mehrere Forscher, und auf Grund der Untersuchungen *Bodnárs*[4]) ist es bekannt, daß die stimulierende Wirkung des Phosphats mit der Überführung der anorganischen Phosphorsäure in organische Form verknüpft ist. Bezüglich der Frage, ob mit der Wirkung des Phosphats auch die Alkoholausscheidung sich steigert, haben die die Phosphatwirkung studierenden Forscher keine Untersuchungen durchgeführt.

---

[1]) *E. Godlewski* und *F. Polzeniusz*, l. c.

[2]) *L. Iwanoff*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **29**, 563, 622, 1911.

[3]) *W. Zaleski* und *A. Reinhard*, diese Zeitschr. **35**, 228, 1911.

[4]) *J. Bodnár*, diese Zeitschr. **165**, 1, 1925. In dieser Mitteilung befindet sich auch die mit der Phosphatwirkung sich beschäftigende Literatur bezüglich der postmortalen Pflanzenatmung.

Zur Prüfung der Feststellung, daß der aufgekochte wässerige Extrakt der Trockenhefepräparate (Hefanol, Zymin) die Pflanzenatmung stimuliert, wurden noch vor den auf die Erbsenmehle sich beziehenden Beobachtungen *Iwanoffs* Versuche ausgeführt. Erstens hat *Kostytschew*[1]) wahrgenommen, daß die durch Zymin vergorene Zuckerlösung die CO_2-Ausscheidung der Weizenkeime stark stimuliert, was er — auf Grund der den genetischen Zusammenhang der aeroben und anaeroben Atmung behandelnden *Pfeffer-Godlewski*schen Hypothese — so zu erklären wünscht, daß die vergorene Zuckerlösung solche näher nicht bekannte Zwischenprodukte der alkoholischen Gärung enthält, die durch die Oxydase der Weizenkeime zu CO_2 und zu Wasser oxydiert werden, im Endresultat wird also durch die mit Zymin vergorene Zuckerlösung die aerobe Atmung stimuliert. Zum Beweis dieser Hypothese hat *Kostytschew*[2]) nachgewiesen, daß durch die Wirkung von Peroxydase (aus Weizenkeimen) und Wasserstoffsuperoxyd aus der vergorenen Zuckerlösung CO_2 entwickelt wird, ferner, daß auf die bei vollständiger Aeration atmenden lebenden Weizenkeime die vergorene Zuckerlösung derartig wirkt[3]), daß die erhöhte CO_2-Ausscheidung von gesteigerter Sauerstoffabsorption begleitet wird, das CO_2/O_2-Verhältnis unverändert bleibt und kein Alkohol entsteht. Die vergorene Zuckerlösung wirkt auf die in Wasserstoff atmenden Weizenkeime derart, daß nicht nur die CO_2-, sondern auch die Alkoholausscheidung gesteigert wird, nachdem wegen Mangel an Sauerstoff die Zwischenprodukte der Gärung nicht durch Oxydation, sondern durch die Wirkung der Zymase der Weizenkeime zersetzt werden. Nach den Versuchen von *Zaleski* und *Reinhard*[4]) wird die Atmung der Weizenkeime, ferner der Erbsen- und Weizenmehle nicht nur durch vergorene Zuckerlösung, sondern auch durch die aufgekochten wässerigen Extrakte des Hefanols befördert. Die Stimulation wurde nicht nur in der Luft, sondern auch im Wasserstoff beobachtet; da die Atmung der untersuchten Objekte anaerober Natur ist, stimuliert der Hefanolextrakt nicht die aerobe, sondern nur die anaerobe Atmung. Ein ähnliches Resultat erhielt *Iwanoff*[5]), als er feststellte, daß der Zyminextrakt als auch die durch Zymin vergorene Zuckerlösung die Atmung der Weizenkeime ohne Sauerstoffabsorption stimuliert, und daß mit der CO_2-Ausscheidung auch die Menge des ausgeschiedenen Alkohols vergrößert wird. Es ist zu bemerken, daß *Iwanoff* nicht lebende (also größtenteils anaerob atmende) Weizenkeime zu seinen Versuchen benutzt hat. *Kostytschew*[6]) erklärt die stimulierende Wirkung des Hefanol- und Zyminextraktes dadurch, daß nicht nur die vergorene Zuckerlösung, sondern auch Hefanol und Zymin Gärungszwischenprodukte enthalten.

Aus dem oben Genannten geht hervor, daß nach *Kostytschews* Ansicht durch die vergorene Zuckerlösung bzw. den Hefanolextrakt die aerobe (bei einer vollständigen Aeration) und anaerobe Atmung stimuliert wird. Hin-

---

[1]) *S. Kostytschew*, diese Zeitschr. **15**, 164, 1908; **23**, 137, 1909.

[2]) *Derselbe*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **67**, 131, 1910.

[3]) *S. Kostytschew* und *A. Scheloumoff*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **31**, 422, 1913; *S. Kostytschew, W. Brillant, A. Scheloumoff*, ebendaselbst **31**, 432, 1913.

[4]) *W. Zaleski* und *A. Reinhard*, l. c.

[5]) *L. Iwanoff*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **29**, 622, 1911.

[6]) *S. Kostytschew* und *A. Scheloumoff*, Jahrb. f. wissensch. Bot. **50**, 157, 1911.

gegen kann nach *Iwanoff* und *Zaleski* nur von Stimulation der anaeroben Atmung die Rede sein.

Den Mechanismus der die anaerobe Atmung stimulierenden Wirkung des Hefanolextraktes kann man sich auf zweierlei Weise vorstellen: 1. In dem Extrakt sind solche Stoffe vorhanden, welche infolge der Wirkung der Zymase vergären, 2. der Extrakt enthält solche Stoffe, welche die Wirkung der Zymase fördern.

Auf die erste Weise — wie vorher ersichtlich — sucht *Kostytschew*, die stimulierende Wirkung des Hefanolextraktes zu erklären. Was die zweite Erklärung betrifft, so kann man daran denken, daß die Zymase durch das im Hefanolextrakt vorhandene anorganische Phosphat stimuliert wird, dem widersprechen aber jene Erfahrungen, daß das Phosphat auf die Atmung der lebenden Weizenkeime[1]) und des Weizenmehls[2]) wirkungslos ist, hingegen wird durch Hefanolextrakt die CO_2-Ausscheidung dieser Objekte stark stimuliert.

Iwanoff führt auf Grund seiner mit Erbsenmehl ausgeführten Versuche die stimulierende Wirkung des Hefanol- und Zyminextraktes auf den Coenzymgehalt der Extrakte zurück. Es ist bekannt, daß zur Wirkung der Zymase der Hefe ein Coenzym notwendig ist, und daß im Laufe der Gärung das Coenzym verbraucht wird. Wenn neben der Zymase nur wenig Coenzym vorhanden ist, kann durch Zusatz von Coenzym die Intensität der Gärung gesteigert werden. Der Coenzymgehalt des Erbsenmehls im Verhältnis zu der Zymase ist klein, und so ist es nach *Iwanoff* leicht zu verstehen, daß der an Coenzym reiche Hefanolextrakt starke stimulierende Wirkung auf die alkoholische Gärung des Erbsenmehls ausübt. Demgemäß ist das Coenzym des Erbsenmehls durch das Coenzym der Hefe ersetzbar. *Meyerhof*[3]) fand, daß der von der Wurzel der keimenden Erbsensamen gewonnene wässerige Extrakt einen das Coenzym der Hefe ersetzenden Stoff enthält. Nach *Kostytschew*[4]) kann die stimulierende Wirkung des Hefanolextraktes und der vergorenen Zuckerlösung nicht auf das Coenzym zurückgeführt werden, „... von einer Einwirkung der Cofermente der Zymase kann in unserem Falle nicht die Rede sein, denn ... üben die bisher bekannten Cofermente nur auf getötete Objekte eine Wirkung aus...“

Zuletzt hat sich *Zaleski*[5]) mit der Prüfung der Wirkung des Hefanolextraktes befaßt. Er hat festgestellt, daß Hefanolextrakt in der Luft als auch im Vakuum die CO_2-Ausscheidung der verschiedenen pflanzlichen Objekte (Weizen-, Lupinensamen und die Mehle der Keime dieser Samen) stark stimuliert; bei dem von den Keimen der Vicia faba gewonnenen Mehl hat er gefunden, daß der Hefanolextrakt nur auf das im Vakuum atmende Mehl einwirkt. Von der Wirkung des Hefanolextraktes sagt er folgendes: „Dennoch bleibt es unbekannt, ob der Hefanolextrakt die Stoffe enthält, die die Wirkung der Gärungsfermente, wie das z. B. das Coenzym tut, stimulieren, oder ob in diesem die

[1]) *S. Kostytschew* und *A. Scheloumoff*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **31**, 422. **1913**.

[2]) *W. Zaleski* und *A. Reinhard*, diese Zeitschr. **27**, 450, 1910.

[3]) *O. Meyerhof*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **102**, 1, 1918.

[4]) *S. Kostytschew*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **31**, 439, 1913.

[5]) *W. Zaleski*, ebendaselbst **31**, 354, 1913.

Substanzen vorhanden sind, die durch die obengenannten Objekte vergoren werden".

Zaleski macht über seine Beobachtung, auf Grund deren es uns gelungen ist, den Mechanismus der Wirkung des Hefanolextraktes auf die postmortale Pflanzenatmung aufzuklären, folgende Angaben: „Es ist sehr interessant, daß zwischen der Stimulation der CO_2-Produktion verschiedener Pflanzen durch die Hefanolextrakte und der Vergärung der Brenztraubensäure durch diese Objekte ein gewisser Parallelismus besteht, so wird die CO_2-Produktion der Pflanzen, die die Brenztraubensäure vergären, unter denselben Bedingungen auch durch die Hefanolextrakte stimuliert." So z. B. vergärt das aus den Keimen der Vicia faba gewonnene Mehl in der Luft weder die Brenztraubensäure noch ihr Na-Salz, und auch der Hefanolextrakt stimuliert die CO_2-Ausscheidung dieses Mehles nicht, hingegen wurde im Vakuum durch die Wirkung der Brenztraubensäure, wie auch durch die des Hefanolextraktes eine gesteigerte CO_2-Ausscheidung wahrgenommen. Auf Grund dieser Erscheinungen hat *Zaleski* vorausgesetzt, daß der Hefanolextrakt Brenztraubensäure enthält und die Brenztraubensäure durch die Wirkung der Carboxylase der pflanzlichen Objekte in CO_2 und Acetaldehyd gespalten wird. Die Untersuchungen, die sich auf den Nachweis von Brenztraubensäure und Acetaldehyd richteten, führten aber zu keinem positiven Resultat. *Zaleski* stellte außerdem fest, daß die die CO_2-Ausscheidung stimulierenden Stoffe aus dem Hefanol mit Methylalkohol auslösbar sind.

Aus dem oben Gesagten geht hervor, daß unsere Kenntnisse bezüglich der Biochemie der postmortalen Pflanzenatmung noch in vieler Hinsicht widersprechend und lückenhaft sind und noch auf Ergänzung warten. Das Ziel unserer Untersuchungen war, die sich auf dieses Thema beziehenden, teils entgegengesetzten Ansichten ins Reine zu bringen und unsere Kenntnisse mit einigen neueren Daten zu vervollständigen.

Die wichtigsten Resultate unserer Untersuchungen sind im folgenden zusammenzufassen:

1. Die anaerobe Atmung der Mehle von Erbsen- und Lupinensamen stimmt — auf Grund der $\frac{\text{Alkohol}}{CO_2}$-Verhältniszahl — mit der alkoholischen Gärung genau überein.

2. Durch die Wirkung des K_2HPO_4 steigert sich nicht nur die CO_2-, sondern auch die Alkoholausscheidung.

3. Das in der Luft atmende Erbsenmehl scheidet nicht nur mehr CO_2, sondern auch mehr Alkohol aus als im Wasserstoff, dies weist darauf hin, daß der Sauerstoff, wie es *Iwanoff* voraussetzt, indirekt an der Atmung teilnimmt.

4. Das aus Erbsen- und Lupinenmehl durch Dialyse erhaltene inaktive Mehl gewinnt seine Aktivität durch Einwirkung von wässerigem aufgekochten Mehlextrakt zurück und verhält sich so wie das ursprüngliche native Mehl. Durch aufgekochten Mehlextrakt wird auch die Atmung des nativen Mehles stark stimuliert.

Die alkoholische Gärung des dialysierten Mehles wird durch coenzymhaltigen Trockenhefeextrakt nicht zurückgestellt, durch Hefecoenzym kann also das Coenzym der pflanzlichen Zymase nicht ersetzt werden.

5. Die Nachweisbarkeit des durch die Wirkung der pflanzlichen Carboxylase aus Brenztraubensäure entstandenen Acetaldehyds hängt davon ab, in welchem Grade die Objekte den Acetaldehyd umzuwandeln fähig sind, diese Fähigkeit findet man am meisten bei dem Erbsenmehl, viel schwächer oder gar nicht ist sie bei dem Lupinen- und Weizenmehl und in dem wässerigen Extrakt der Mehle zu bemerken.

6. Das Lupinen- und Weizenmehl, der wässerige Extrakt dieser Mehle und des Erbsenmehles wirken derartig auf das Natriumpyruvinat ein, daß neben CO_2 auch die Entstehung des Acetaldehyds nachweisbar ist, dagegen beim Erbsenmehl scheidet sich nur CO_2 (im Wasserstoff) aus.

7. Die stimulierende Wirkung des Trockenhefeextraktes auf die postmortale Pflanzenatmung ist nicht auf den Coenzymgehalt des Hefeextraktes zurückzuführen — wie es *Iwanoff* dachte —, sondern man kann von jener Tatsache, daß der Trockenhefeextrakt eine ähnliche Wirkung wie das Natriumpyruvinat hat, darauf schließen, daß der Trockenhefeextrakt solche Substanzen enthält, aus welchen durch Einwirkung der Carboxylase der pflanzlichen Objekte CO_2 und Acetaldehyd entsteht.

Die Herren Professoren *C. Neuberg* in Berlin und *H. v. Euler* in Stockholm waren so gefällig, einen Teil der zu unseren Versuchen benutzten Brenztraubensäure sowie Trockenhefen zur Verfügung zu stellen, daher halten wir es für unsere angenehme Pflicht, den Herren *Carl Neuberg* und *Hans v. Euler* unseren innigsten Dank auszusprechen.

Experimenteller Teil.

a) Versuchsmethoden.

Die als Versuchsobjekte benutzten gut keimenden Erbsen- (Viktoriasorte) und Lupinensamen (Lupinus luteus) wurden 1 bis 2 Stunden lang in Wasser eingeweicht, geschält, bei 30 bis 40^0 getrocknet, in der Samenmühle gemahlen, das Mahlprodukt auf einem $^1/_5$-mm-Metallsieb durchgesiebt und das mehlfeine Produkt zu den Versuchen benutzt. Zur Bereitung des Weizenmehles wurde ausgewählter, mit Wasser

gewaschener, gut keimender Weizen gemahlen und das Mahlprodukt ohne Durchsieben benutzt. Als Atmungsapparat diente ein eine große Bodenoberfläche besitzender Erlenmeyerkolben oder eine Saugflasche mit 400 bis 600 ccm Inhalt. Der den Erlenmeyerkolben luftdicht schließende, dreifach durchbohrte Kautschukpfropfen wurde mit rechtwinklig gebogenem Ausführungs- und Einleitungsrohr und mit einem kleinen Scheidetrichter versehen, bei der Saugflasche diente das Seitenrohr als Ausführungsrohr. Auf die Enden der Röhren wurden 4 bis 5 cm lange, mit Quetschhahn versehene dickwandige Gummischläuche gezogen. Zu dem in den Atmungsapparat hineingewogenen Mehl wurde die benötigte Menge Wasser bzw. Lösung und in jedem Falle 1 bis 2 ccm Toluol hinzugefügt und so vermischt, daß sich der entstehende Brei in einer möglichst einheitlich dünnen Schicht am Boden des Kolbens verteilte. Über Näheres bezüglich der Vermischung verweisen wir auf die Mitteilung des einen[1]) von uns. Sollte die CO_2-Ausscheidung des im Atmungsapparat befindlichen Objektes in der Luft bestimmt werden, so wurden die Ausführungs- und Einleitungsröhren einfach verschlossen, hingegen sollte es im Wasserstoff geschehen, so wurde aus chemisch reiner Schwefelsäure und Zn gewonnener, durch Kalilauge, Kaliumpermanganat, Silbernitrat und konzentrierte Schwefelsäure gewaschener Wasserstoff eine halbe Stunde lang im lebhaften Strome durch den Atmungsapparat durchgeleitet und erst dann abgeschlossen.

CO_2-Bestimmung. Nach Ablauf der Versuchszeit wurde zur Bestimmung der ausgeschiedenen CO_2 das Ausführungsrohr des Atmungsapparates mit dem *Bodnár*schen Barytwasserrohr[2]) verbunden und nach vorsichtigem Öffnen des Quetschhahnes die im Atmungsapparat gesammelte CO_2 mit langsamem, CO_2-freiem Luftstrom in das Absorptionsrohr hinübergetrieben. Bei Beginn des Überleitens wurden einige Kubikzentimeter verdünnter Schwefelsäure durch den Scheidetrichter in den Atmungsapparat einfließen gelassen, um die Wirkung der Enzyme zu vernichten und die eventuell in Form von Carbonat gebundene CO_2 frei zu machen. Jedes Kubikzentimeter des benutzten Barytwassers war fähig, 1 mg CO_2 zu binden. Zum Titrieren wurde Oxalsäurelösung (1 ccm = 1 mg CO_2) benutzt.

Alkoholbestimmung. Zur Alkoholbestimmung, wenn sie mit CO_2-Bestimmung verbunden war, wurde eine unter denselben Bedingungen eingestellte Probe wie zur CO_2-Bestimmung (in einem separaten Atmungsapparat) benutzt. Wenn nur Alkohol allein zu bestimmen war, so wurden keine Atmungsapparate benutzt, sondern das Mehl

---

[1]) *J. Bodnár*, diese Zeitschr. **165**, 16, 1925.
[2]) Noch nicht veröffentlicht.

in eine mit Gummipfropfen luftdicht verschließbare Flasche eingewogen und wie gewöhnlich mit Wasser vermischt.

Da die unmittelbare Destillation des Alkohols aus dem mit Wasser gemischten Mehl mit mehreren Schwierigkeiten verbunden ist (Aufschäumen, Anbrennen), wurde das Mehl in einen Meßzylinder mit Wasser hinübergewaschen, einige Kristalle Kochsalz und einige Tropfen Essigsäure hinzugefügt, auf 100 ccm ergänzt, 80 ccm des Filtrats mit Barytwasser alkalisch gemacht, wenig Tannin zugesetzt und destilliert. Das gewonnene Destillat wurde durch wiederholte Destillation auf 50 ccm gebracht und die Alkoholbestimmung auf folgende Weise durchgeführt:

Da in unserem Falle kleine Alkoholmengen zu bestimmen sind, haben wir statt mit der pyknometrischen mit der *Philip-Hamill*schen[1]) Methode gearbeitet. Nach diesem Verfahren wird der Alkohol in schwefelsaurer Lösung mit Kaliumbichromat oxydiert und das nicht verbrauchte Bichromat mit Ferrosulfat und Kaliumpermanganat zurücktitriert.

Die zur Bestimmung nötigen Lösungen enthielten in je 1000 ccm:

$K_2Cr_2O_7$	84,4 g
$FeSO_4 + 7\,H_2O$	253,2 g
$KMnO_4$	3,5 g

Die Einstellung der Lösungen geschieht mit einer Alkohollösung von genau bestimmter Konzentration auf folgende Weise:

Zu einer Lösung von 5 ccm $K_2Cr_2O_7$ werden 10 ccm Wasser, 10 ccm konzentrierter H_2SO_4 zugefügt, im siedenden Wasserbade 10 Minuten lang erhitzt, mit 10 ccm $FeSO_4$-Lösung versetzt und mit $KMnO_4$-Lösung titriert; es wurden z. B. 5,1 ccm $KMnO_4$ verbraucht.

Ebenso vorgegangen, wie vorher, nur statt 10 ccm Wasser 10 ccm 50 mg Alkohol enthaltende Lösung benutzt, wurden 47,1 ccm $KMnO_4$ verbraucht.

Rechnung: $\frac{50}{47{,}1 - 5{,}1} = 1{,}19$, also jedes Kubikzentimeter der $KMnO_4$-Lösung bedeutet 1,19 mg Alkohol. Zur Kontrolle dieser Methode wurde der Alkoholgehalt solcher Lösungen, welche aus einer Alkohollösung von genau bekannter Konzentration hergestellt waren, bestimmt und folgende Resultate erhalten:

Verbrauchte $KMnO_4$ ccm	Alkohol gefunden mg	Alkohol berechnet mg
38,55	39,8	40
30,55	30,2	30
22,70	20,9	20
13,95	10,5	10
9,35	5,0	5

Diese Daten sprechen für die Verläßlichkeit der Methode.

[1]) Handb. d. biol. Arbeitsmethod., Lfg. 2, S. 114; Chem. Centralbl. 1898, I, 226.

Wenn neben Alkohol auch Acetaldehyd zugegen ist, ist diese Methode nicht anwendbar, der Aldehyd muß aus der Lösung entfernt werden. Zur Entfernung des Aldehyds ist das durch *Neuberg* und *Hirsch*[1]) empfohlene m-Phenylendiaminchlorhydrat geeignet. Inwieweit dieses Verfahren zur Bestimmung kleiner Mengen von Alkohol geeignet ist, wurde die folgende kontrollierende Prüfung ausgeführt.

Eine Lösung von 50 mg Alkohol + 20 mg Acetaldehyd in 70 ccm Wasser wurde mit 2 g m-Phenylendiaminchlorhydrat in 10 ccm Wasser versetzt, nach 30 Minuten langem Stehen 1 Stunde lang mit Rückflußkühler gekocht, dann destilliert, der Alkohol bestimmt und im Mittelwert 49,3 mg Alkohol zurückgewonnen.

Nachweis und Bestimmung des Acetaldehyds. Der Acetaldehyd wurde in dem Destillat der Objekte durch die *Rimini*sche Reaktion nachgewiesen. Die quantitative Bestimmung des Acetaldehyds wurde mit der gut bekannten *Ripper*schen Methode ausgeführt.

b) *Versuchsergebnisse.*

Zur Prüfung, inwieweit die CO_2-Ausscheidung des Erbsenmehles von der Menge des zum Mehl hinzugesetzten Wassers abhängt, wurden folgende Versuche ausgeführt.

1. Versuchsreihe.

Versuchsdauer 8 Stunden. Temperatur 14°. Je 5 g Erbsenmehl.

Wasser ccm	CO_2 mg		Wasser ccm	CO_2 mg	
6	8,0	8,4	20	3,2	3,6
10	4,2	4,4	50	2,0	2,6

Diese Versuchsreihe zeigt klar, daß das mit 6 ccm Wasser — das zum einheitlichen Durchfeuchten eben genügt — vermengte Mehl die meiste CO_2 ausscheidet.

Nach *Zaleski* und *Reinhard*[2]) scheidet das Erbsenmehl (Versuchsdauer 8 Stunden) im Wasserstoff ebensoviel CO_2 aus wie in der Luft, dagegen fand *Iwanoff*[3]) in der Luft mehr CO_2-Ausscheidung als im Wasserstoff (im Vakuum). Das zu unseren Versuchen benutzte Erbsenmehl scheidet — unabhängig von der Versuchsdauer — mehr CO_2 in der Luft als im Wasserstoff aus.

2. Versuchsreihe.

Je 5 g Erbsenmehl + 6 ccm Wasser.

CO_2 in der Luft mg	CO_2 im Wasserstoff mg	Versuchsdauer Stunden	Temperatur
46,8	19	20	23—24°
46,6	17,4	20	23—24
8,7	5,7	6	16

[1]) *C. Neuberg* und *J. Hirsch*, diese Zeitschr. **98**, 141, 1919.
[2]) *W. Zaleski* und *A. Reinhard*, diese Zeitschr. **85**, 228, 1911.
[3]) *L. Iwanoff*, diese Zeitschr. **25**, 171, 1910.

Iwanoff[1]) fand bei dem Atmungsprozeß des Erbsenmehles, daß die Verhältniszahl $\frac{\text{Alkohol}}{CO_2}$ ($CO_2 = 100$) 67,8, 80,0 ist. Zu diesen Daten fügt *Iwanoff* folgendes hinzu: „Eine vollständige Übereinstimmung mit der Gleichung der alkoholischen Gärung ist natürlich schwer zu erwarten, da eine solche auch bei der Zymasegärung nicht immer zu beobachten ist. Hier muß dank der großen Oberfläche ein Teil des Alkohols sich verflüchtigen, trotzdem der Versuchskolben mit einer Waschflasche mit kaltem Wasser verbunden war." Um Alkoholverlust zu vermeiden, wurde die Alkoholbestimmung so ausgeführt, daß von zwei unter denselben Bedingungen eingestellten Proben die eine zur CO_2-, die andere zur Alkoholbestimmung benutzt wurde.

3. Versuchsreihe.

Versuchsdauer 20 Stunden. Temperatur 18 bis 20°.
Je 5 g Erbsenmehl + 6 ccm Wasser.

CO_2 mg	Alkohol mg	$\frac{\text{Alkohol}}{CO_2}$ mg
36,4	35,9	98,6
35,8	36,3	101,4

Die für die alkoholische Gärung charakteristische Verhältniszahl ist 104,5.

Nach den Daten der vierten Versuchsreihe wurde durch Phosphat nicht nur die CO_2-Ausscheidung, sondern auch die Alkoholausscheidung stimuliert.

4. Versuchsreihe.

Versuchsdauer 20 Stunden. Temperatur 16°. Je 5 g Erbsenmehl.

Nr.		CO_2 mg	Alkohol mg
1	6 ccm Wasser	16,4	18,8
2	6 ccm 2proz. K_2HPO_4 . . .	27,0	30,1

Nach den Daten der fünften und sechsten Versuchsreihe wurde durch Sauerstoff auch die Alkoholausscheidung gesteigert. Der Sauerstoff bewirkt also einen aktivierenden Einfluß auf die Erbsenenzymase, was *Iwanoff* so erklärt, daß der Sauerstoff aus dem Zymogen Zymase frei macht.

[1]) *L. Iwanoff*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **29**, 563, 1911.

5. Versuchsreihe.

Versuchsdauer 20 Stunden. Temperatur 18 bis 20°.
Je 5 g Erbsenmehl + 6 ccm Wasser.

Alkohol in der Luft mg	Alkohol im Wasserstoff mg
36,0	23,4 24,7

6. Versuchsreihe.

Versuchsdauer 4 Tage. Temperatur 15 bis 17°.
Je 10 g Erbsenmehl + 12 ccm Wasser.

Alkohol in der Luft mg	Alkohol im Wasserstoff mg
117, ... 118	108, ... 109

Auf Grund der Versuche *Godlewskis*[1]) ist die intramolekulare Atmung der Lupinensamen — ähnlich der Erbsensamen — auch als ein mit der alkoholischen Gärung identischer Prozeß zu betrachten. Nach unseren Untersuchungen bei der Atmung des Lupinenmehles stimmt die $\frac{\text{Alkohol}}{CO_2}$-Verhältniszahl mit der für die alkoholische Gärung charakteristischen Verhältniszahl überein. Die Intensität der Atmung des Lupinenmehles — wie es *Godlewski* auch bei den lebenden Samen beobachtet hatte — ist wesentlich kleiner als die des Erbsenmehles.

7. Versuchsreihe.

Versuchsdauer 40 Stunden. Temperatur 17°.
Je 5 g Lupinenmehl + 8 ccm Wasser[2]).

CO_2 mg	Alhohol mg	$\frac{\text{Alkohol}}{CO_2}$ mg
8,4	8,7	103,5
8,0	8,7	108,7

Harden und *Young* haben die Hefezymase durch Dialyse in zwei Teile geteilt, der eine Bestandteil ist ein thermolabiles Enzym, der andere das thermostabile Coenzym. Jedes einzelne ist wirkungslos, der Zucker kann nur durch coenzymhaltige Zymase vergoren werden.

Wurde Erbsen- und Lupinenmehl der Dialyse unterworfen, so bekam man solche Mehle, welche nur höchstens in Spuren CO_2 und

1) *E. Godlewski*, Bull. de l'Acad. des sciences de Cracovie, Mars 1904, S. 115.

2) Das Lupinenmehl war nur mit 8 ccm Wasser zum Brei zu vermischen.

Alkohol ausscheiden, aber durch die Wirkung der wässerigen gekochten Extrakte dieser Mehle ihre Aktivität zurückgewannen, ihr Atmungsprozeß stimmt vollständig mit der Atmung des ursprünglich nativen Mehles überein.

Die Dialyse dieser Mehle wurde so ausgeführt, daß je 30 g Mehl mit je 150 ccm Wasser und 2 bis 3 ccm Toluol vermischt, der gewonnene dünne Brei in einen Beutel aus gutem Pergamentpapier geschüttet, der mit einer Schnur befestigte Beutel in ein mit destilliertem Wasser gefülltes Becherglas eingetaucht und auf die Oberfläche des Wassers so viel Toluol geschüttet wurde, daß es ganz bedeckt war. Die Dialyse dauerte 24 Stunden, inzwischen wurde das äußere Wasser dreimal erneuert. Nach Beendigung der Dialyse wurde der Inhalt des Beutels auf Faltenfilter gebracht, der am Filter gebliebene Brei auf Glasplatten aufgeschmiert, bei Zimmertemperatur getrocknet, zum Mehl gemahlen und im toluolhaltigen Exsikkator aufbewahrt. Zwecks Bereitung von Extrakt wurden je 20 g Mehl mit 120 ccm Wasser und 1 bis 2 ccm Toluol gut vermischt, 2 Stunden lang stehengelassen und durch ein trockenes Faltenfilter filtriert. Das gelbliche, opalisierende Filtrat wird in einer Porzellanschale im Wasserbade so weit eingeengt, daß die vom ausgeschiedenen Protein abgegossene Flüssigkeit mit dem dialysierten Mehl vermischt eine breiartige Masse gab.

8. Versuchsreihe.

Versuchsdauer 20 Stunden. Temperatur 16°.

Je 5 g dialysiertes Erbsenmehl + 7 ccm Wasser.

CO_2 mg	Alkohol mg
1,2	0

Je 5 g dialysiertes Erbsenmehl + Extrakt aus 20 g nativem Erbsenmehl.

CO_2 mg	Alkohol mg	$\frac{Alkohol}{CO_2}$ mg
18,4	18,5	100,5
11,4	12,3	107,9

Je 10 g dialysiertes Erbsenmehl + Extrakt aus 20 g nativem Erbsenmehl.

CO_2 in der Luft mg	CO_2 im Wasserstoff mg	Alkohol in der Luft mg	Alkohol im Wasserstoff mg
24,0	12,6	26,0	13,6

9. Versuchsreihe.

Versuchsdauer 40 Stunden. Temperatur 18 bis 21°.

Je 10 g dialysiertes Lupinenmehl + 14 ccm Wasser.

CO_2 mg	Alkohol mg
2,4	In Spuren

Je 10 g dialysiertes Lupinenmehl + Extrakt aus 20 g nativem Lupinenmehl.

CO_2 mg	Alkohol mg	$\frac{\text{Alkohol}}{CO_2}$ mg
26,6	28,6	107,5
28,6	29,7	106,1

Die Daten der achten und neunten Versuchsreihe beziehen sich auf solche dialysierten Mehle, die gleich nach dem Austrocknen geprüft wurden. Die Aktivität der dialysierten Mehle sinkt während der Aufbewahrung, und zwar bei dem Erbsenmehl schneller als bei dem Lupinenmehl.

10. Versuchsreihe.

Versuchsdauer 20 Stunden. Temperatur 15°.

1. Je 5 g dialysiertes *ein*tägiges Erbsenmehl + Extrakt aus 20 g nativem Erbsenmehl.
2. Je 5 g dialysiertes *fünf*tägiges Erbsenmehl + Extrakt aus 20 g nativem Erbsenmehl.

Nr.	CO_2 mg	Alkohol mg
1	18,4	18,5
2	6,4	7,2

11. Versuchsreihe.

Versuchsdauer 40 Stunden. Temperatur 18 bis 20°.

1. Je 10 g dialysiertes *ein*tägiges Lupinenmehl + Extrakt aus 20 g nativem Lupinenmehl.
2. Je 10 g dialysiertes *fünf*tägiges Lupinenmehl + Extrakt aus 20 g nativem Lupinenmehl.
3. Je 10 g dialysiertes *zehn*tägiges Lupinenmehl + Extrakt aus 20 g nativem Lupinenmehl.

Nr.	CO_2 mg	Alkohol mg
1	28,0	29,7
2	16,0	20,3
3	10,4	13,0

Der gekochte, wässerige Extrakt des Erbsenmehls aktiviert nicht nur die Atmung des dialysierten, sondern auch die des nativen Erbsenmehls, wie in der Luft so im Wasserstoff.

12. Versuchsreihe.

Versuchsdauer 20 Stunden. Temperatur 19 bis 20°.

1. Je 5 g Erbsenmehl + 6 ccm Wasser.
2. Je 5 g Erbsenmehl + Extrakt aus 20 g nativem Mehl.

Nr.	In der Luft		Im Wasserstoff	
	CO_2 mg	Alkohol mg	CO_2 mg	Alkohol mg
1	22,0	23,0	15,2	18,7
2	35,4	35,0	24,8	26,7

Längere Zeit atmendes Erbsenmehl scheidet schon wenig CO_2 aus, weil einerseits die Wirkung der Zymase schwächer wird, andererseits das Coenzym verbraucht wird. So fand z. B. *Iwanoff*[1]), daß 5 g Erbsenmehl in den ersten 24 Stunden 19,6 mg, in den sechsten 24 Stunden aber nur 2,2 mg CO_2 ausscheiden. Die CO_2-Ausscheidung des seit längerer Zeit atmenden Erbsenmehles wird durch den Extrakt des nativen Mehles stark stimuliert.

13. Versuchsreihe.

Versuchsdauer 20 Stunden. Temperatur 15°.

Je 5 g Erbsenmehl + 6 ccm Wasser, nach 6 Tagen.

1. Je 5 ccm Wasser.
2. Extrakt aus je 20 g nativem Erbsenmehl.

Nr.	CO_2	
	mg	mg
1	5,0	4,5
2	11,8	11,4

Die Wirkung der Brenztraubensäure und des Trockenhefeextraktes auf die Atmung der Samenmehle.

Auf Grund der Untersuchungen von *Zaleski* und *Marx*[2]) wird die CO_2-Ausscheidung des Erbsen- und Lupinenmehls durch Brenztraubensäure und noch mehr durch das Na-Salz dieser Säure stark stimuliert, wobei man auf die Gegenwart der *Neuberg*schen Carboxylase schließen kann. Als wir die Wirkung der Brenztraubensäure und deren Na-Salz auf die Samenmehle untersuchten, erhielten wir folgende Resultate:

[1]) *L. Iwanoff*, l. c.

[2]) *W. Zaleski* und *E. Marx*, diese Zeitschr. **47**, 185, 1912; **48**, 175, 1912; *W. Zaleski*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **31**, 349, 1913.

Nr. der Versuchsreihen:	14		15		16	
Temperatur:	22 bis 23°		21 bis 22°		20°	
Versuchsdauer 20 Stunden	Je 5 g Erbsenmehl		Je 5 g Lupinenmehl		Je 5 g Weizenmehl	
	in der Luft mg CO_2	im Wasserstoff mg CO_2	in der Luft mg CO_2	im Wasserstoff mg CO_2	in der Luft mg CO_2	im Wasserstoff mg CO_2
Je 6 ccm Wasser[1]	43,0	17	10,3	9,6	3,4	3,0
" 6 " 0,3 proz. Brenztraubensäure	23,4 (—19,6)	23,5 (+ 6,5)	12,0 (+ 1,7)	12,0 (+ 2,4)	6,6 (+ 3,2)	—
Je 6 ccm 0,8 proz. Brenztraubensäure	15,8 (—27,2)	19,8 (+ 2,8)	14,8 (+ 4,5)	15,8 (+ 6,0)	4,6 (+ 1,2)	—
Je 6 ccm 0,3 proz. Na-pyruvinat	50,0 (+ 7,0)	29,2 (+ 13,2)	14,4 (+ 4,1)	16,0 (+ 6,4)	7,4 (+ 4,0)	—
" 6 " 0,8 proz. "	39,2 (— 3,8)	24,8 (+ 7,8)	17,2 (+ 6,9)	20,0 (+ 10,4)	8,4 (+ 5,0)	—

[1]) Zu dem Lupinenmehl wurden 8 ccm Wasser bzw. Lösung benutzt.

Aus den Daten dieser Versuchsreihen ist ersichtlich, daß die CO_2-Ausscheidung des *Erbsenmehls* in der Luft durch Brenztraubensäure stark vermindert, durch verdünntes Natriumpyruvinat gefördert und durch konzentriertes Natriumpyruvinat ein wenig herabgesetzt wird. Im Wasserstoff wurde in jedem Falle gesteigerte CO_2-Ausscheidung beobachtet; verdünnte Lösungen stimulieren stärker als konzentrierte, bei dem *Lupinen-* und *Weizenmehl* wurde auch in der Luft gesteigerte CO_2-Ausscheidung beobachtet.

Diese Resultate lassen daraus folgern, daß bei solchem Samenmehl, wie z. B. das Erbsenmehl, welches in der Luft wesentlich mehr CO_2 ausscheidet wie im Wasserstoff, der den CO_2-Überschuß erzeugende Oxydationsprozeß — nach *Iwanoff* die Entstehung der Zymase aus einem Zymogen — durch Brenztraubensäure stark und durch 0,8 proz. Natriumpyruvinat weniger paralysiert wird. Bei solchen Objekten, wie z. B. die Lupinen- und Weizenmehle, welche in der Luft nur etwas mehr CO_2 ausscheiden als im Wasserstoff, wird die Zersetzung der Brenztraubensäure auch in der Luft wahrnehmbar sein.

Zaleski hat gefunden, daß durch 0,3 proz. Brenztraubensäure die CO_2-Ausscheidung des Erbsenmehles gesteigert wird. Nach Versuchen *Zaleskis* ist die anaerobe und aerobe CO_2-Ausscheidung des Erbsenmehles gleich. Da — auf Grund des oben Gesagten — bei solchen

Mehlen die aktivierende Wirkung der Brenztraubensäure auch in der Luft sich äußert, ist es wahrscheinlich, daß *Zaleski* die Wirkung der Brenztraubensäure auf in der Luft und im Wasserstoff mit gleicher Intensität atmende Erbsenmehle untersucht hat.

Läßt man auf aus Samenmehlen gewonnene wässerige Extrakte Brenztraubensäure oder Natriumpyruvinat einwirken, so kann man CO_2-Entwicklung wahrnehmen, also ist die Carboxylase aus den Mehlen mit Wasser zu extrahieren. Da die Extrakte meist nur in Spuren CO_2 ausscheiden, wird bei Erbsenmehlextrakten durch Einwirkung von Brenztraubensäure und konzentriertem Natriumpyruvinat auch in der Luft CO_2-Ausscheidung zu beobachten sein.

Aus den Mehlen wurden die wässerigen Extrakte derartig gewonnen, daß je 10 g Mehl mit Wasser und mit etwas Toluol vermischt wurden (es wurden zum Erbsenmehl 60, zum Lupinenmehl 70 und zum Weizenmehl 40 ccm Wasser angewendet), 2 Stunden lang stehengelassen, dann auf ein trockenes Faltenfilter gebracht und das opalisierende Filtrat zu den Versuchen benutzt wurde.

Der Nachweis der Carboxylase kann nur dann als ganz sicher betrachtet werden, wenn es gelingt, neben CO_2 auch die Entstehung des Acetaldehyds nachzuweisen. *Zaleski* hat beobachtet, daß durch die Einwirkung von Lupinen- und Erbsensamen aus Brenztraubensäure Acetaldehyd abgespalten wird.

Nr. d. Versuchsreihen:	17		18		19
Temperatur:	22 bis 23°		22°		21°
Versuchsdauer 20 Stunden	Je 12 ccm Erbsenmehlextrakt		Je 14 ccm Lupinenmehlextrakt		Je 20 ccm Weizenmehlextrakt
	in der Luft mg CO_2	im Wasserstoff mg CO	in der Luft mg CO_2	im Wasserstoff mg CO_2	in der Luft mg CO_2
Je 2 ccm Wasser	1,1	0	0	0	0
„ 5 „ „	0,6	0	0	0	0
Je 2 ccm 1 proz. Brenztraubensäure	3,2 (+ 2,1)	3,0 (+ 3,0)	4,5 (+ 4,5)	4,6 (+ 4,6)	2,0 (+ 2,0)
Je 5 ccm 1 proz. Brenztraubensäure	2,0 (+ 1,4)	1,4 (+ 1,4)	4,4 (+ 4,4)	3,4 (+ 3,4)	2,0 (+ 2,0)
Je 2 ccm 1 proz. Na-pyruvinat . .	4,2 (+ 3,1)	3,2 (+ 3,2)	5,0 (+ 5,0)	4,8 (+ 4,8)	1,8 (+ 1,8)
Je 5 ccm 1 proz. Na-pyruvinat . .	7,0 (+ 6,4)	9,0 (+ 9,0)	6,8 (+ 6,8)	5,4 (+ 5,4)	1,8 (+ 1,8)

Wenn die Hefecarboxylase auf das Na-Salz der Brenztraubensäure einwirkt, so ist nach den Versuchen *Neubergs* und *Karczags*[1]) die Entstehung des Acetaldehyds nicht nachweisbar. Der abgespaltene Acetaldehyd wird auf Grund der Versuche *Neubergs* und *Hirschs*[2]) durch die

[1]) *C. Neuberg* und *L. Karczag*, diese Zeitschr. **36**, 68, 1911.
[2]) *C. Neuberg* und *J. Hirsch*, ebendaselbst **96**, 175, 1919.

Einwirkung der Aldehydmutase der Hefe — im Sinne der *Cannizaro*schen Reaktion — zu Alkohol und Essigsäure umgewandelt. Wenn der Acetaldehyd nicht aus Pyruvinat, sondern aus freier Brenztraubensäure abgespalten wird, wird infolge der sauren Reaktion des Mediums weniger Aldehyd umgewandelt, der größte Teil bleibt unverändert.

Über unsere auf die Nachweisbarkeit des Acetaldehyds sich beziehenden Untersuchungen gibt die 20. Versuchsreihe Aufklärung.

20. Versuchsreihe.

Versuchsdauer 20 Stunden. Temperatur 18 bis 20°.

			Acetaldehydreaktion
5 g Erbsenmehl	+ 6 ccm	Wasser	negativ
5 g ,,	+ 6 ,,	0,8 proz. Brenztraubensäure . .	positiv
5 g ,,	+ 6 ,,	0,3 ,, Na-Pyruvinat	negativ
5 g ,,	+ 6 ,,	0,8 ,, ...	,,
5 g Lupinenmehl	+ 8 ,,	Wasser	kaum positiv
5 g ,,	+ 8 ,,	0,8 proz. Brenztraubensäure . .	positiv
5 g ,,	+ 8 ,,	0,8 ,, . Na-Pyruvinat	,,
5 g Weizenmehl	+ 6 ccm	Wasser	negativ
5 g ,,	+ 6 ,,	0,8 proz. Na-Pyruvinat	positiv
12 g Erbsenmehlextrakt	+ 5 ccm	Wasser	negativ
12 g ,,	+ 5 ,,	0,8 proz. Na-Pyruvinat .	positiv
14 g Lupinenmehlextrakt	+ 5 ,,	Wasser	kaum positiv
14 g ,,	+ 5 ,,	0,8 proz. Na-Pyruvinat .	positiv
20 g Weizenmehlextrakt	+ 5 ,,	Wasser	negativ
20 g ,,	+ 5 ,,	0,8 proz. Na-Pyruvinat .	positiv

Aus den Daten dieser Versuchsreihe geht hervor, daß mit Brenztraubensäure alle drei Mehle positive Aldehydreaktion geben, in den mit Natriumpyruvinat eingestellten Mehlen — mit Ausnahme des Erbsenmehles — kann man auch die Anwesenheit des Acetaldehyds nachweisen. Auch bei den Mehlextrakten wurde mit Natriumpyruvinat in jedem Falle positive Reaktion erhalten. Im Lupinenmehl und -extrakt entsteht auch ohne Brenztraubensäure Acetaldehyd, aber nur in schwachen Spuren.

Auf Grund dieser Daten schien es sehr naheliegend, darauf zu schließen, daß das Lupinen- und Weizenmehl und weiterhin die Extrakte trotz der alkalischen Reaktion nicht imstande sind, den entstandenen Acetaldehyd gänzlich umzuwandeln, hingegen aber kann der Acetaldehyd in dem mit Natriumpyruvinat eingestellten Erbsenmehl deshalb nicht nachgewiesen werden, weil der abgespaltene Acetaldehyd gleich umgewandelt wird. Bei dem mit freier Brenztraubensäure eingestellten Mehl wird aber der Acetaldehyd infolge der sauren Reaktion

des Mediums nicht vollständig umgewandelt, sondern bleibt in gut nachweisbarer Menge zurück.

Inwieweit Samenpflanzen Acetaldehyd umzuwandeln fähig sind, finden wir in *Zaleskis* Mitteilungen[1] über die pflanzliche Carboxylase folgende Daten:

„So haben wir beobachtet, daß abgetötete Erbsensamen auf Kosten von Brenztraubensäure Äthylalkohol bilden, während Lupinensamen zu einer solchen Umwandlung nicht fähig sind. Diese Erscheinung steht im Zusammenhang mit den reduzierenden Eigenschaften dieser Objekte. Weiter haben wir gefunden, daß die Erbsensamen nur 40 bis 50 Proz. von Acetaldehyd in Äthylalkohol überführen."

„Der bei der Zersetzung der Brenztraubensäure durch die Carboxylase in den Pflanzen auftretende Acetaldehyd wird je nach den Bedingungen zu Alkohol reduziert oder weiter oxydiert."

Jedenfalls ist es Aufgabe weiterer Forschungen, zu entscheiden, ob in Samenpflanzen die Umwandlung des Acetaldehyds im Sinne der Dismutationsreaktion geschieht.

Die Resultate unserer Versuche über die Acetaldehyd umwandelnde Fähigkeit des Erbsen-, Lupinen- und Weizenmehles und deren Extrakte enthält die 21. Versuchsreihe.

21. Versuchsreihe.

Versuchsdauer 20 Stunden. Temperatur 19 bis 20°.

Je 10 ccm Acetaldehydlösung.

	Hinzugefügter Acetaldehyd mg	Zurückgewonnener Acetaldehyd mg	Verbrauchter Acetaldehyd mg
5 g Erbsenmehl	25,0	7,7	17,3
5 g Lupinenmehl	28,6	23,0	5,6
5 g Weizenmehl	27,1	26,2	0,9
52 ccm Erbsenmehlextrakt	23,1	21,9	1,2
14 „ Lupinenmehlextrakt	28,6	26,6	2,0
10 „ Weizenmehlextrakt	27,1	26,2	0,9

Diese Daten bestätigen, daß es bei dem Erbsenmehl deshalb nicht gelungen ist, die Anwesenheit des vom Natriumpyruvinat abgespaltenen Acetaldehyds nachzuweisen, weil die Umwandlung des Acetaldehyds bei dem Erbsenmehl am intensivsten geschieht. Lupinen- und Weizenmehl, weiterhin die Extrakte sind nur in sehr vermindertem Grade oder überhaupt nicht fähig, Acetaldehyd umzuwandeln, und so wird der Nachweis des Acetaldehyds möglich.

[1]) *W. Zaleski* und *E. Marx*, diese Zeitschr. 48, 175, 1912; *W. Zaleski*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. 31, 349, 1913.

Die Wirkung des Trockenhefeextraktes auf Erbsen-, Lupinen- und Weizenmehl und auf die Extrakte dieser Mehle ist nach den Daten der 22. und 23. Versuchsreihe ganz ähnlich der Wirkung des 0,8proz. Natriumpyruvinats. Durch die Einwirkung von Trockenhefeextrakten sinkt die CO_2-Ausscheidung des Erbsenmehls in der Luft, vermehrt sich aber im Wasserstoff; die CO_2-Ausscheidung des Lupinen- und Weizenmehles und die der Extrakte wird durch Trockenhefeextrakt auch in der Luft gefördert, und *endlich, was das wichtigste ist*, ist es gelungen, neben CO_2 auch die Entstehung des Acetaldehyds nachzuweisen. Ebenso wie bei der Prüfung der Wirkung des Natriumpyruvinats gab nur das Erbsenmehl keine positive Aldehydreaktion. Zur Bereitung des Trockenhefeextraktes wurden 5 g gepulverter Trockenhefe mit 30 ccm Wasser vermischt, 10 Minuten lang in ein heißes Wasserbad gestellt, filtriert, auf dem Wasserbade zu 6 bis 8 ccm eingeengt und dieser konzentrierte Extrakt zu den Versuchen benutzt.

22. Versuchsreihe.

Versuchsdauer 20 Stunden. Temperatur 16°.

	CO_2 in der Luft mg	CO_2 im Wasserstoff mg
5 g Erbsenmehl + 6 ccm Wasser	19,8	11,4
5 g „ + 6 „ Hefeextrakt . . .	13,2 (— 6,4)	22,4 (+ 11)
5 g Lupinenmehl + 8 ccm Wasser	5,4	—
5 g „ + 8 „ Hefeextrakt . .	15,6 (+ 10,2)	—
5 g Weizenmehl + 6 ccm Wasser	3,8	—
5 g „ + 6 „ Hefeextrakt . .	10,2 (+ 6,4)	—
12 ccm Erbsenmehlextrakt + 6 ccm Wasser	0	—
12 „ „ + 6 „ Hefeextrakt	6,6 (+ 6,6)	—
14 ccm Weizenmehlextrakt + 6 ccm Wasser	0	—
14 „ „ + 6 „ Hefeextrakt	8,0 (+ 8,0)	—

23. Versuchsreihe.

Versuchsdauer 20 Stunden. Temperatur 18 bis 20°.

	Acetaldehydreaktion
5 g Erbsenmehl + 6 ccm Trockenhefeextrakt	negativ
5 g Lupinenmehl + 8 „ „	positiv
5 g Weizenmehl + 6 „ „	„
12 ccm Weizenmehlextrakt + 6 ccm Trockenhefeextrakt . . .	„
12 „ Lupinenmehlextrakt + 6 „ „ . . .	„
12 „ Weizenmehlextrakt + 6 „ „ . . .	„

Bei der Prüfung (24. Versuchsreihe) aus einem alten, den Zucker nicht mehr vergärenden Hefanol gewonnenen Extrakte erhalten wir dieselben Resultate wie mit frischer Trockenhefe.

24. Versuchsreihe.

Versuchsdauer 20 Stunden. Temperatur 18 bis 20°.

	mg CO_2	Acetaldehyd-reaktion
5 g Erbsenmehl + 6 ccm Wasser	25,0	
5 g „ + 6 „ Hefanolextrakt . .	23,0 (— 2,0)	negativ
5 g Lupinenmehl + 8 ccm Wasser	9,0	
5 g „ + 8 „ Hefanolextrakt . .	22,0 (+ 11,2)	positiv
5 g Weizenmehl + 6 ccm Wasser	3,6	
5 g „ + 6 „ Hafenolextrakt . .	7,4 (+ 3,8)	positiv
12 ccm Erbsenmehlextrakt + 6 ccm Wasser .	0	
12 „ „ + 6 „ Hefanolextrakt	3,4 (+ 3,4)	positiv
14 ccm Lupinenmehlextrakt + 8 ccm Wasser .	0	
14 „ „ + 8 „ Hefanolextrakt	5,8 (+ 5,8)	positiv

Die 25. Versuchsreihe dient als Bestätigung, daß der Acetaldehyd aus dem Trockenhefeextrakt durch Enzymwirkung entsteht.

25. Versuchsreihe.

Versuchsdauer 20 Stunden. Temperatur 18 bis 20°.

	Acetaldehydreaktion
14 ccm Lupinenmehlextrakt + 6 ccm Wasser	kaum positiv
14 „ „ + 6 „ Trockenhefeextrakt .	positiv
14 „ gekochter Lupinenmehlextrakt + 6 ccm Trockenhefeextrakt	negativ
14 ccm Wasser + 6 ccm Trockenhefeextrakt.	„

Um eine leichtere Übersicht zu gewinnen, stellen wir die mit Natriumpyruvinat und die mit Trockenhefeextrakt erhaltenen Resultate nebeneinander.

	CO_2-Überschuß				Acetaldehydreaktion	
	Na-Pyruvinat		Trockenhefeextrakt		Na-Pyruvinat	Trockenhefeextrakt
	in der Luft mg	im Wasserstoff mg	in der Luft mg	im Wasserstoff mg		
Erbsenmehl . .	— 3,8	7,8	— 5,4	11,0	negativ	negativ
Erbsenmehlextrakt . . .	6,4	—	6,4	—	positiv	positiv
Lupinenmehl .	6,9	—	10,2	—	positiv	positiv
Lupinenmehlextrakt . . .	6,8	—	8,0	—	positiv	positiv
Weizenmehl u. Extrakt . . .	—	—	—	—	positiv	positiv

Auf Grund dieser Daten kann die stimulierende Wirkung des Trockenhefeextraktes auf die postmortale Pflanzenatmung darauf zurückgeführt werden, daß der Trockenhefeextrakt solche Substanzen enthält, aus welchen durch die Einwirkung der Carboxylase der pflanzlichen Objekte CO_2 und Acetaldehyd entsteht. Es ist Aufgabe weiterer

Forschungen, zu entscheiden, ob in der Trockenhefe die Brenztraubensäure oder eines ihrer Salze vorhanden ist. Wenn die Brenztraubensäure nicht als solche vorhanden ist, ist es fraglich, aus welcher Verbindung des Trockenhefeextraktes und auf Grund welcher Wirkung des Pflanzenenzyms sie entsteht.

Es schien interessant, Versuche durchzuführen, um zu erfahren, wie der coenzymhaltige Trockenhefeextrakt auf das coenzymfreie dialysierte Mehl einwirkt und ob das Coenzym der Zymase der Samenpflanzen durch das Coenzym der Hefezymase zu ersetzen ist.

26. Versuchsreihe.

Versuchsdauer 40 Stunden. Temperatur 18 bis 20°.
Je 10 g dialysiertes Lupinenmehl.

Nr.		CO_2 mg	Alkohol mg	Acetaldehydreaktion
1	16 ccm Wasser	2,0	—	—
2	16 „ Trockenhefeextrakt .	6,6	2,1	positiv
3	16 „ Lupinenmehlextrakt .	23,4	25,6	negativ

Dialysiertes Lupinenmehl scheidet nach Einwirkung von Trockenhefeextrakt nur wenig CO_2 und nur Spuren von Alkohol aus, hingegen mit Mehlextrakt ist eine intensive CO_2- und Alkoholausscheidung zu beobachten. Dem entsprechend kann das Coenzym der Zymase der Lupinensamen nicht durch Hefecoenzym ersetzt werden, die mit Trockenhefeextrakt beobachtete CO_2-Ausscheidung ist auf die Wirkung der Carboxylase zurückzuführen, die Carboxylase kann ihre Wirkung auch ohne Coenzym ausüben.

Iwanoff fand, daß der Zyminextrakt auch die Alkoholausscheidung des Erbsenmehles stark stimuliert, und dies schreibt er dem Coenzymgehalt des Zyminextraktes zu. Nach den Daten der 27. Versuchsreihe fördert der Trockenhefeextrakt die Alkoholausscheidung des Erbsen- und Lupinenmehles, und zwar ist die Wirkung des Extraktes bei dem Erbsenmehl wesentlich intensiver als bei dem Lupinenmehl.

27. Versuchsreihe.

Versuchsdauer 20 Stunden. Temperatur 18 bis 22°.

	Alkohol mg
5 g Erbsenmehl + 6 ccm Wasser	15,5
5 g „ + 6 „ Trockenhefeextrakt . .	28,4
5 g Lupinenmehl + 8 ccm Wasser	8,1
5 g „ + 8 „ Trockenhefeextrakt .	10,1

Auf Grund unserer Versuche kann die die Alkoholausscheidung stimulierende Wirkung des Trockenhefeextraktes nicht auf das Coenzym des Extraktes zurückgeführt werden, sondern sie ist so zu erklären, daß der aus dem Trockenhefeextrakt durch die Wirkung der Carboxylase frei werdende Acetaldehyd zu Alkohol umgewandelt wird. Dieser Prozeß ist bei dem Erbsenmehl viel intensiver als bei dem Lupinenmehl. Wenn der Trockenhefeextrakt auf solche Objekte (wie z. B. die Mehlextrakte), welche höchstens nur Spuren von Acetaldehyd umzuwandeln fähig sind, einwirkt, wird die Steigerung der CO_2-Ausscheidung nicht von einer Alkoholausscheidung begleitet.

28. Versuchsreihe.

Versuchsdauer 20 Stunden. Temperatur 18 bis 20°.

	Alkohol mg	Acetaldehyd-reaktion
12 ccm Erbsenmehlextrakt + 6 ccm Wasser . . .	4,7	negativ
12 „ „ + 6 „ Trockenhefeextrakt	5,3	positiv
14 ccm Lupinenmehlextrakt + 6 ccm Wasser . . .	4,9	kaum positiv
14 „ „ + 6 „ Trockenhefeextrakt	5,3	positiv

12 ccm Erbsenmehlextrakt enthalten ursprünglich 6,6 mg Alkohol.
14 „ Lupinenmehlextrakt „ „ 5,3 „ „

Über das Gesetz vom Minimum bei Pilzkulturen.

Von

Anneliese Niethammer.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der deutschen Universität in Prag.)

(Eingegangen am 2. September 1925.)

Mit 6 Abbildungen im Text.

Der Zusammenhang zwischen gebotener Nährstoffmenge und sich daraus entwickelnder Pflanzenmasse bildet schon lange den Gegenstand des Interesses der Landwirte. Die grundlegendsten Fragen sind in ausgedehntem Maße von *Liebig* erörtert worden, bis zu dessen Schriften hatte die theoretische Landwirtschaft noch nicht viel über diese fundamentalen Prozesse nachgedacht. *Liebig* gebührt das Verdienst, richtig erkannt zu haben, daß das Pflanzenwachstum nicht nur von mehreren Nährstoffen abhängig ist, sondern daß die Menge und Zusammensetzung dieser Stoffe von ausschlaggebender Bedeutung ist. Uns interessiert hier vor allem, was er über die Menge und das Verhältnis der einzelnen Nährstoffe zueinander ausgesagt hat. Zunächst seien *Liebigs* eigene Worte wiedergegeben, mit denen er den Versuch unternimmt, das Problem bildlich zu erfassen.

„Acht Stoffe sind zum Pflanzenwachstum nötig, sie sind gleich acht Ringen einer Kette um ein Rad, ist einer davon schwach, so reißt die Kette bald, der fehlende ist der Hauptring, ohne den das Rad die Maschine nicht bewegt. Die Stärke der Kette bedingt der *schwächste* Ring[1]."

Das Pflanzenwachstum hängt also stets von dem Wachstumsfaktor ab, der in zu geringer Menge vorhanden ist. Dieses Abhängigkeitsverhältnis formuliert nun *Liebig* theoretisch und bezeichnet das Gesetz, das uns über dieses Abhängigkeitsverhältnis unterrichtet, als „das Gesetz vom Minimum". Die mathematische Konsequenz aus diesem

[1] *Justus v. Liebig*, Chemische Briefe 2. Leipzig und Heidelberg 1859.

Gesetz ergab nun Proportionalität zwischen dem gegebenen Wachstumsfaktor und dem erhaltenen Mehrertrag[1]).

Neuerdings wurden *Liebigs* Formulierungen wieder viel erörtert und auch angegriffen. Deshalb wurde der Versuch unternommen, mit Hilfe von Pilzkulturen möglichst genaue Werte für die Abhängigkeit der Ernte von den einzelnen Nährstoffen zu erlangen, weil hier die Bedingungen besser beherrscht werden können, wie *E. G. Pringsheim* uns in seiner Arbeit schon gezeigt hat[2]). Damit ist in kurzen Umrissen die Aufgabe skizziert, die behandelt werden soll. Die Anregung zu vorliegender Arbeit erhielt ich von Herrn Prof. *E. G. Pringsheim*, dem ich hierfür zu großem Danke verpflichtet bin.

Solche Versuche, an Pilzen durchgeführt, beanspruchen entschieden ein großes Interesse. An Pilzernährungsversuchen in vitro haben wir es in der Hand, alle Wachstumsfaktoren nach unserem Ermessen zu regeln und konstant zu erhalten; Feldversuche an unseren Kulturgewächsen werden einem solchen Bestreben immer einen energischen Widerstand entgegensetzen. Wird der zahlenmäßige Zusammenhang zwischen in der Nährlösung gegebenen Nährstoffen und der daraus gebildeten Leibessubstanz in verschieden zusammengesetzten und verschieden konzentrierten Lösungen in größeren Versuchsreihen einmal an Pilzen genau untersucht, warum sollte es, davon ausgehend, nicht erlaubt sein, Analogieschlüsse auf unsere Kulturgewächse zu ziehen? Diese Aufgabe scheint dankenswert zu sein, da man schon seit Jahrzehnten daran arbeitet, das Verhältnis, das sich zwischen verschiedenen Düngergaben und der jeweils daraus entstehenden Pflanzensubstanz ergibt, mathematisch zu formulieren. In diesem Sinne wird dann am Schluß der Arbeit getrachtet werden, das Zahlenmaterial, das an Kulturpflanzen ermittelt wurde, mit dem hier gefundenen zu vergleichen.

Zunächst soll ein kurzer Abriß der einschlägigen Literatur folgen, soweit sie sich mit Pilzkulturen beschäftigt hat. Die entsprechenden Beobachtungen, die an höheren Pflanzen ermittelt wurden, sollen erst später, im Zusammenhang mit den hier gewonnenen Resultaten, besprochen werden.

Die meisten Autoren behandeln die hier aufgeworfenen Fragen nur nebensächlich im Zusammenhang mit anderen, für den betreffenden Autor viel wichtigeren Problemen.

In dem letzten Jahrzehnt des vorigen Jahrhunderts wurde eifrig daran gearbeitet, die zu einer normalen Pilzentwicklung nötigen Nährsalze bzw.

---

[1]) *Justus v. Liebig*, Die chemischen Prozesse der Ernährung der Vegetabilien. Braunschweig 1865. Die Chemie in ihrer Anwendung auf die Agrikultur und Physik. 1862.

[2]) *Ernst G. Pringsheim*, Zeitschr. f. Bot. **6**, 577, 1914.

Metalle eindeutig zu bestimmen. Es sei hier an die Angaben von *Molisch*[1]) erinnert, der auf Grund äußerst genauer Untersuchungen für die Notwendigkeit des *Eisens* bei der Entwicklung von Aspergillus niger eintritt. Dieser Nachweis war schon zwei Jahrzehnte früher von *Raulin*[2]) angestrebt worden, wurde aber durch in der Literatur erhobene Zweifel in Frage gestellt. Die Versuche von *W. Benecke*[3]) zeigen ganz eindeutig, daß ohne Kalium und Magnesium ein Pilzwachstum — es wurden vorwiegend aspergillus und Penicillium geprüft — ausgeschlossen ist. Die genannten Autoren sorgten natürlich für eine tunlichst einwandfreie Reinigung sämtlicher angewendeter Substanzen und Materialien, um Trugschlüssen vorzubeugen. Über den Einfluß verschiedener Schwermetallsalze und einiger organischer und anorganischer Stoffe auf das Erntegewicht bei Schimmelpilzen berichtet *Richard*[4]). Die Zahl der Salze und Verbindungen, die hier geprüft werden, ist groß. Uns interessieren hier vor allem die starken Gewichtszunahmen des Mycels, die durch Zusatz von Eisen- und Zinksulfat erzielt wurden. *Nikitinsky*[5]) befaßt sich mit dem Einfluß, den die Stoffwechselprodukte von Aspergillus niger auf seine Entwicklung ausüben. Nur nebenher berührt er unser Thema, wenn er Erntegewichte angibt, die er in den verschiedenen Lösungen gefunden hat. Steigende Rohrzuckerkonzentration gibt gesteigerte Ernte. Bis 20 Proz. Zucker verläuft die Ertragssteigerung proportional dem Zuckerzusatz. Erstaunlich ist die Angabe, daß die Steigerung der Nährsalzkonzentration inklusive Stickstoff auf die Entwicklung keinen Einfluß hat. Allerdings scheinen die Versuche bei niederen Zuckerkonzentrationen und nie bei geringen Nährsalzmengen ausgeführt worden zu sein.

Unserem Thema stehen jedenfalls die Untersuchungen von *Rubner*[6]) sehr nahe. Vor allen Dingen sind sie die ersten systematischen Untersuchungen, die sich mit dem Verhältnis zwischen Nährstoffgabe und daraus entstehender Leibessubstanz befassen. Als Versuchsobjekt dient ein Proteusbakterium und als Nährmedium Fleischextrakt. Der Ertrag wird nicht mit der Wage festgestellt, sondern die im Bakterienkörper festgelegten Stickstoff- und Schwefelmengen werden bestimmt. Als wichtigste Ergebnisse sind folgende festzustellen: 1. Die Konzentration der Nährlösung bestimmt die Ernten. 2. Allen Nährstoffkonzentrationen kommt ein ähnlicher Wachstumsverlauf zu. 3. Die größten Ernten stehen zwar in einem festen, aber nicht proportionalen Verhältnis zur Konzentration, die Erntemengen steigen stärker als die Gaben an Fleischextrakt. In großzügigen Untersuchungen, die der Erforschung der Stickstoffquellen für das Wachstum und die Gärkraft der Hefe gewidmet sind, berührt *H. Pringsheim* unser Thema[7]). Über den Zusammenhang zwischen Peptongabe und Hefevermehrung gewinnen wir ein gutes Bild. Pepton in steigenden Mengen angewendet, gibt eine Erhöhung der Hefezahl. Als Maßstab dient das mikroskopische Auszählen der Hefezellen. Bei Pepton ist Proportionalität zwischen Zahl der Hefezellen und gebotener Nährstoffmenge zu finden, was bei anderen Stickstoffquellen, so auch bei Ammonsulfat,

[1]) *Hans Molisch*, Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen. Jena 1892.
[2]) *Raulin*, Ann. sc. Bot., Ser. V, **11**, 91, 1869.
[3]) *W. Benecke*, Jahrb. f. wiss. Bot. **28**, 485, 1895.
[4]) *M. Richard*, ebendaselbst **30**, 665, 1897.
[5]) *J. Nikitinsky*, ebendaselbst **40**, 68, 1904.
[6]) *M. Rubner*, Arch. f. Hyg. **57**, 163, 1906.
[7]) *H. Pringsheim*, diese Zeitschr. **3**, 192, 1907.

bei dem die absolute Steigerung der Ernte auch schon viel früher aufhört, nicht zu finden ist. Die günstigste Einwirkung des Peptons ist darin zu suchen, daß es geringe osmotische Hemmungen bedingt. Weiter sei erwähnt, daß *Ritter*[1]) den Einfluß verschiedener Ammoniumsalze auf das Wachstum von Aspergillus niger untersuchte. Geprüft wurden das Sulfat, Phosphat, Nitrat und Chlorid. Das Trockengewicht ist am höchsten beim Phosphat (primäres) und nimmt langsam zum Chlorid ab. Der Grund der besseren Ausnutzung bestimmter Salze ist darin zu suchen, daß der Pilz gegen die dabei entstehenden Säuren sehr widerstandsfähig ist. Über den Einfluß der Hefevermehrung in Würze hat *Carlson* Angaben erbracht. Er findet eine zunächst steile Vermehrungskurve, die ein Maximum erreicht und dann horizontal weiter verläuft[2]). Eine ähnliche Fragestellung finden wir bei *Kunstmann*[3]). Ein großer Teil der hier besprochenen Probleme ist von *E. G. Pringsheim*[4]) systematisch zusammengefaßt. In Rücksicht auf die Bedeutung der Versuche für die Problemstellung muß die Arbeit eingehender behandelt werden. Es ist hier zum erstenmal mit einer großen Anzahl von Parallelkulturen gearbeitet worden, was zur Gewinnung einwandfreier Resultate sehr wichtig ist. Die ersten Versuche sind der Abhängigkeit der Ernte von der Nährstoffmenge gewidmet. Bei Aspergillus niger wird bis 40 Proz. Zucker eine namhafte Ertragssteigerung erzielt. Die Proportionalität bleibt allerdings schon früher zurück. Mucorarten vermögen keine so hohen Zuckermengen mehr auszunutzen. Im Anschluß daran wird der Gang der Vermehrung in verschieden konzentrierten Lösungen bei Hefe studiert. Aus den darüber mitgeteilten Kurvenbildern ist zu ersehen, daß jede Konzentration eine bestimmte Vermehrungsgeschwindigkeit bewirkt, bei höheren Konzentrationen gewinnen wir steilere Kurven und das Maximum wird später erreicht als bei schwachen Lösungen. Die Kurven zeigen stets einen steilen Anstieg, der dann allmählich flacher wird. Nun wendet sich der Verfasser den einzelnen Nährstoffen zu, und zwar zunächst dem Stickstoff, der als Ammonsulfat gereicht wird. Der Einfluß dieses Salzes wird bei Aspergillus an verschieden konzentrierten Zuckerlösungen untersucht; es wird überall ein allmählicher Anstieg mit erhöhter Stickstoffgabe festgestellt, der ungefähr bis ½ Proz. reicht, von da an ist kein wesentlicher Einfluß mehr zu verzeichnen. Proportionalität zwischen Stickstoff und Erntegewicht wird *nicht* erzielt. Die Erntegewichte steigen langsamer als die Stickstoffmengen, eine Beobachtung, die *Benecke* (l. c.) auch bei seinen Kaliumsulfatversuchen mitteilt. Die letzten Kapitel der *Pringsheim*schen Arbeit sind der Förderung der Pilzentwicklung durch Giftspuren gewidmet. Zinksulfat fördert bei 10- und 20proz. Zuckerlösungen das Wachstum ganz bedeutend. Bei niederen Zuckerkonzentrationen ist die Förderung so gering, daß sie möglicherweise nicht einmal die Versuchsfehler überschreitet. Als wichtigstes Ergebnis dieser Giftversuche wird festgestellt, daß die *Ausnützung stärkerer Zuckerlösungen* bei weitem gebessert wird.

Im Zusammenhang mit dieser Schlußfolgerung bei der *Pringsheim*schen Problemstellung sei die Arbeit von *Butkewitsch* und *Orloff*[5]) erwähnt.

---

[1]) *G. Ritter*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **27**, 583, 1909.
[2]) *J. Carlson*, ebendaselbst **57**, 311, 1913.
[3]) *Kunstmann*, Dissertation Leipzig 1895.
[4]) *E. Pringsheim*, Zeitschr. f. Bot. **6**, 577, 1914.
[5]) *Butkewitsch* und *Orloff*, diese Zeitschr. **132**, 1922.

Die beiden Autoren beschäftigen sich mit der Frage der Steigerung des ökonomischen Koeffizienten, d. h. in diesem Falle mit der *besseren Ausnutzung* des Zuckers. Es werden eine ganze Reihe von Verbindungen angeführt, die die Ausnutzung der in der Nährlösung gegebenen Zuckermenge bessern, und zwar sind das Zinksulfat, Kobaltsulfat und Quecksilberchlorid, in geringen Mengen zugesetzt.

Methodik.

Die Versuchsanordnung erfolgte in Anlehnung an die von *E. G. Pringsheim* gewählte (l. c.). Als Kohlenstoffquelle diente stets Rohrzucker, der meist als reinstes Präparat der Firmen Merck, Kahlbaum und Schuchard angewendet wurde. Bei Versuchen, wo es weniger auf die absolute Reinheit der Substanzen ankam, genügte gewöhnlicher, reiner weißer Kandiszucker. Die Nährsalze und die Citronensäure wurden stets in reinster Form, als Kahlbaum- oder Merckpräparat gereicht.

Die *Pilze* wurden durchweg in Erlenmeyerkolben, deren Inhalt etwa 125 ccm betrug, gezogen, und zwar in einem elektrischen Thermostaten bei 30°. Der Brutschrank hielt äußerst genau die vorgeschriebene Temperatur, die größten Schwankungen betrugen 0,2°. Die Nährlösungen bis 10 Proz. Zuckergehalt wurden 60 Minuten im siedenden Dampftopf sterilisiert, höher konzentrierte Zuckerlösungen, die leichter karamelisieren, wurden nur 30 Minuten darin belassen. *Geimpft* wurde mit Sporen bzw. Hefezellen, die in Eprouvetten, die 1 ccm destilliertes sterilisiertes Wasser enthielten, hergestellt wurden. Sämtliche Impfungen wurden mit derselben Platinöse durchgeführt, und zwar wurden pro Kultur zwei Ösen geimpft. Die Anzahl der Parallelkulturen betrug 3 bis 4. Die *Ernte* an Pilzsubstanz wurde mittels Wägung auf der analytischen Wage ermittelt. Zu diesem Zwecke mußte zunächst die im Kolben befindliche Nährlösung abfiltriert werden. Es wurden gewöhnliche qualitative Filter verwendet, die durch 12 Stunden im Trockenschrank bei 60° getrocknet worden waren und deren Gewicht in einem gut schließenden Wägegläschen auf der analytischen Wage bestimmt wurde. Jedes Filter wurde vor Gebrauch mit Bleistift bezeichnet. Besonderes Gewicht wurde auf das Auswaschen der Pilzdecken und Filter nach der Filtration gelegt, denn hierbei im Filter zurückbleibende Nährstoffe können das Erntegewicht bedeutend beeinflussen. Die nassen Filter mit den Pilzen wurden nun 24 bis 48 Stunden im Trockenschrank bei 60° getrocknet, dann in den Exsikkator gebracht und auf drei bis vier Dezimalen ausgewogen. Wo es nicht anders erwähnt ist, wurden 20 ccm Nährlösung gereicht.

Als *Versuchsobjekte* dienten Aspergillus niger und Mycoderma cerevisiae, in vereinzelten Fällen auch Amylomyces Rouxii. Das Ausfindigmachen geeigneter Versuchspflanzen war recht mühsam, denn dieselben sollten möglichst gut und gleichmäßig wachsen und

sich auch gut impfen lassen. In Vorversuchen wurde eine Reihe Vertreter der Mucorarten, verschiedene Hefen, Sachsia suav., Coniphora cereb., Oidium lactis und Antomyces Reukauffii geprüft, die sich alle mehr oder minder ungeeignet für unsere Untersuchungen erwiesen.

Nur Aspergillus niger, der durch seine Deckenbildung ausgezeichnet und eigentlich schon ein klassisches Versuchsobjekt ist, und Mycoderma cer., die ein recht konstantes Wachstum aufweist, konnten zur Ausführung der Hauptversuche herangezogen werden. Die Aspergillusdecken wurden in Rücksicht auf die Infektionsgefahr für andere, speziell Algenkulturen, vor der Filtration im Dampftopf abgetötet. Die dadurch bedingten Fehler waren gleich Null. Mycoderma wurde lebend filtriert.

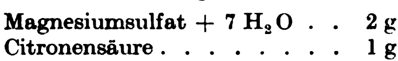
Eigene Versuche.

I. Abhängigkeit der Ernte von der Nährstoffmenge.

Die erste Aufgabe war es nun, die durch Arbeiten früherer Autoren bereits bekannten Resultate nochmals zu prüfen und unter Umständen weiter auszubauen.

Es wurde die seinerzeit von *E. Pringsheim* (l. c.) angegebene Stammnährlösung verwendet, die je nach Bedarf verdünnt wurde.

Zusammensetzung der Nährlösung.



Rohrzucker	400 g	Magnesiumsulfat + $7\,H_2O$ . .	2 g
Ammonsulfat	40 g	Citronensäure	1 g
Primäres Kaliumphosphat .	2 g		

aufgelöst und mit destilliertem Wasser auf 1000 ccm aufgefüllt.

Das Verhalten der verschiedenen Versuchsobjekte in der in Form einer arithmetischen Reihe stufenweise verdünnten Stammlösung soll in folgendem erläutert werden. Der Erntedurchschnitt versteht sich stets in Milligrammen.

a) Aspergillus niger (Abb. 1).

Zucker Proz.	Erntedurchschnitt A*)	B*)	C
0,65	—	30	32
1,25	61	—	—
2,5	134	82	90
5	189	127	125
10	422	200	235
20	824	—	—

A bedeutet 9 Tage Versuchsdauer, B und C je 4 Tage, wobei C die doppelte Ammonsulfatmenge bekommen hat; wie B.

*) Siehe Abb. 1.

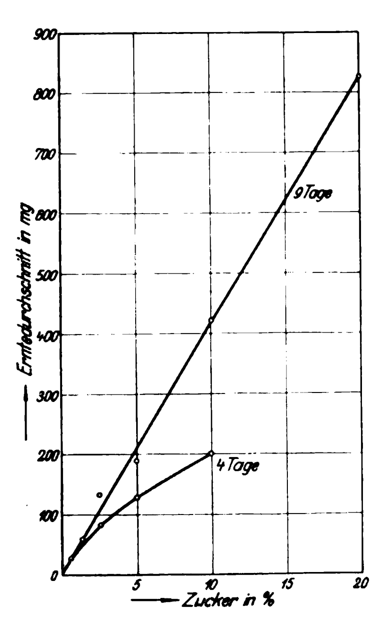


Abb. 1. Aspergillus niger.

b) Amylomyces Rouxii.

Zucker	Erntedurchschnitt				
Proz.	A	B	C	D	E
0,31	23	—	—	—	11
0,62	32	—	—	—	17
1,25	40	39	26	27	28
2,5	60	—	50	44	54
5	84	70	84	84	80
10	111	93	134	116	—

A, B und E enthalten die normale Nährlösung, C auf 40 Proz. Zucker 0,4 Proz. Pepton und D die doppelte Ammonsulfatmenge. Versuchsdauer durchwegs 5 Tage.

c) Mycoderma cerevisiae.

Zucker	Erntedurchschnitt		Zucker	Erntedurchschnitt	
Proz.	A	B	Proz.	A	B
0,62	6	—	10	122	154
1,25	12	—	20	154	—
2,5	52	30	40	—	—
5	73	121			

A enthält die doppelte Ammonsulfatmenge, 50 ccm Nährflüssigkeit. Versuchsdauer beidemal 8 Tage.

Besprechung der Ergebnisse.

Die für Aspergillus gefundenen Zahlenverhältnisse stimmen im großen und ganzen mit den Ergebnissen der früheren Autoren überein. In dem neuntägigen Versuch konnte bis 20 Proz. Zucker gute Proportionalität erzielt werden zwischen Nährstoffzusatz und Ansatz an Pilzsubstanz. Bei dem nur 4 Tage dauernden Versuch verwischt sich die Proportionalität bei höheren Konzentrationen ein wenig. Die Ursache hierfür dürfte wohl darin zu suchen sein, daß das Wachstum den Höhepunkt noch nicht erreicht hatte.

Bei Amylomyces, der sich augenscheinlich für derartige Versuche weniger eignet, da das Wachstum unregelmäßig und gering ist, konnte bei Abstufung der Normalnährlösung nur selten annähernde Proportionalität erzielt werden. Trat Proportionalität ein, so geschah dies nicht in den unteren, sondern in den mittleren Gliedern der Reihe. Peptonzusatz scheint die Ausnutzung 10proz. Zuckerlösungen zu bessern.

Die Kurvenbilder für Mycoderma zeigen im Habitus teilweise Übereinstimmung mit denen von Aspergillus, nur werden starke Zuckerlösungen bei weitem nicht in dem Maße ausgenutzt wie bei Aspergillus.

Im Anschluß daran soll ein anderes, ebenfalls in der Literatur häufig erörtertes Kapitel behandelt werden.

II. Abhängigkeit der Erntemenge von der Versuchszeit.

Die grundlegendsten Fragen sind hier von *E. G. Pringsheim* (l. c.) gelöst worden, und es sei auch hier wieder auf dessen Arbeit hingewiesen.

Die im folgenden mitgeteilten Versuche wurden an Mycoderma cerevisiae ausgeführt und hatten den Zweck, den zeitlichen Wachstumsverlauf auch einmal an stark konzentrierten Rohrzuckerlösungen zu studieren. Die diesbezüglichen in der Literatur mitgeteilten Versuche an Hefen sind maximal mit 8proz. Lösungen ausgeführt worden.

1. Durchschnitt der Erntegewichte in Milligrammen bei 20 Proz. Zucker.

Nach Tagen	mg	Nach Tagen	mg
3	63	7	97
5	113	11	74

Es wurde die Normalnährlösung verwendet.

2. 20proz. Normalnährlösung, das Ammonsulfat wird abgestuft.

Ammonsulfat Proz.	Erntedurchschnitt nach 4 Tagen	Erntedurchschnitt nach 9 Tagen
0,5	57	66
2	67	91
4	38	103

Aus diesen zwei kleinen Versuchen ist wieder zu ersehen, daß der *Zeit* ein ganz bedeutender Einfluß, besonders bei stark konzentrierten Zuckerlösungen zukommt. Aus dem Versuch mit 4 Proz. Ammonsulfat ist in Übereinstimmung mit früheren Literaturangaben sehr gut zu ersehen, daß die hohen Konzentrationen im Anfang ein langsameres Wachstum zeigen als die schwächeren Lösungen, um diese schließlich zu überholen, falls genug Zucker vorhanden.

Bei der Betrachtung der nun folgenden Versuche wird immer wieder der Faktor Zeit berücksichtigt werden, wenn auch nur nebenher, und wir werden wiederholt die von *E. Pringsheim* beobachteten Tatsachen, daß jeder Lösungskonzentration eine bestimmte Vermehrungsgeschwindigkeit entspricht und daß bei höheren Konzentrationen der Anstieg länger dauert und das Maximum des Erntegewichtes später erreicht wird, bestätigen können.

Die nun folgenden Versuche sollen uns das Verhalten der Pilze zeigen, wenn in einer sonst konstanten Lösung nur *ein* Stoff abgestuft wird. Als erstes wollen wir nun den Einfluß des Stickstoffs in der Form des Ammonsulfats, Phosphats und Nitrats prüfen.

III. Abstufung der anorganischen Stickstoffmenge.

Aspergillus niger (Abb. 2).

Es wird wieder die normale Nährlösung verwendet, nur wird die Nährsalzmenge verdoppelt, desgleichen die Citronensäure (natürlich ohne jeden Stickstoffzusatz, da dieser die Variable darstellt).

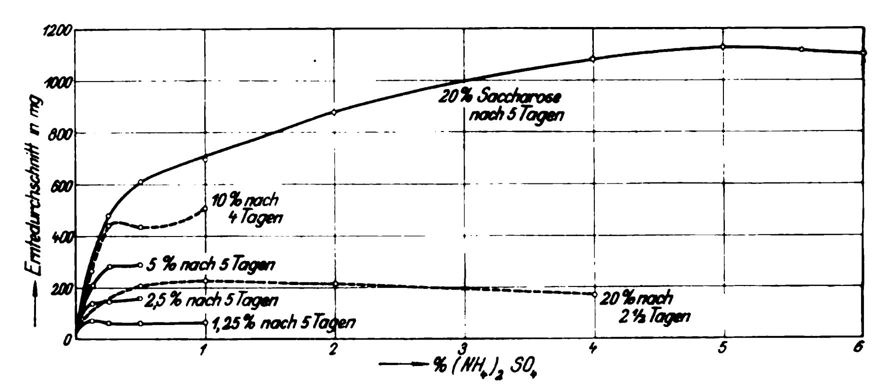


Abb. 2. Aspergillus niger.

1,25 Proz. Saccharose.

Versuchsdauer 5 Tage.

Ammonsulfat Proz	Erntedurchschnitt*)	Ammonsulfat Proz.	Erntedurchschnitt
0,015	18	0,25	62
0,03	32	0,5	63
0,06	58	1	67
0,125	71		

*) Siehe Abb. 2.

2,50 Proz. Saccharose.

Ammonsulfat	Erntedurchschnitt		Ammonsulfat	Erntedurchschnitt	
Proz.	A	B*)	Proz.	A	B
0,015	—	43	0,5	79	152
0,03	29	68	1	79	—
0,06	—	119	2	82	—
0,125	—	131	4	113	—
0,25	55	138			

A bedeutet 3 Tage und B 5 Tage Versuchsdauer.
*) Siehe Abb. 2.

5 Proz. Saccharose.

Ammonsulfat	Erntedurchschnitt			
Proz.	A	B*)	B	C
0,015	29	—	—	—
0,03	44	—	—	—
0,06	68	137	101	—
0,125	103	200	119	168
0,25		274	136	176
0,5		283	160	189
1		—	154	205
2		—	—	267
4		—	—	

A bedeutet 3 Tage, B 5 Tage und C 9 Tage Versuchsdauer.
*) Siehe Abb. 2.

10 Proz. Saccharose.

Ammonsulfat Proz.	Erntedurchschnitt A	B*)	C	D	E	F
0,0075	29	18	—	—	—	—
0,015	69	36	—	—	—	—
0,3	73	54	—	—	—	60
0,06	75	108	—	—	107	96
0,125	116	203	—	167	179	173
0,25	136	438	358	292	428	385
0,5	129	430	414	381	262	465
1	233	506	468	441	—	445
2	174	—	414	458	588	—
4	—	—	—	458	—	—
8	—	—	—	398	—	—

A bedeutet $2^1/_2$ Tage, B 4 Tage, C $4^1/_2$ Tage, D 5 Tage, E 9 Tage und F 4 Tage Versuchsdauer enthält statt Ammonsulfat das primäre Ammonphosphat.

*) Siehe Abb. 2.

20 Proz. Saccharose.

Ammonsulfat Proz.	Erntedurchschnitt A*)	B	B*)	B	C	D	E
0,015	—	—	77	—	—	—	—
0,03	39	89	—	—	89	—	—
0,06	72	113	125	—	154	—	—
0,125	138	167	265	158	196	444	203
0,25	155	301	478	565	435	532	156
0,5	204	524	613	735	611	692	206
1	224	627	695	770	708	605	228
2	218	833	887	952	857	—	130
4	170	1,001	1,085	1,224	981	—	—
8	—	—	937	1,000	—	—	—

A bedeutet $2^1/_2$ Tage, B 5 Tage, C 6 Tage Versuchsdauer. D enthält statt Ammonsulfat das primäre Ammonphosphat und E statt des Sulfats das Nitrat. D und E bedeutet je 4 Tage Versuchsdauer.

*) Siehe Abb. 2.

Mycoderma cerevisiae.

2,50 Proz. Saccharose.

Ammonsulfat Proz.	Erntedurchschnitt A	B	Ammonsulfat Proz.	Erntedurchschnitt A	B
0,03	13	11	0,25	47	—
0,06	27	19	0,5	32	37
0,125	28	27	1	23	45

A bedeutet 4 Tage und B 6 Tage Versuchsdauer.

5 Proz. Saccharose.

Ammonsulfat Proz.	Erntedurchschnitt A	B	Ammonsulfat Proz.	Erntedurchschnitt A	B
0,03	27	—	0,5	47	53
0,06	32	31	1	28	—
0,125	33	35	2	33	—
0,25	44	43			

A bedeutet 4 Tage und B 6 Tage Versuchsdauer.

10 Proz. Saccharose.

Ammonsulfat Proz.	Erntedurchschnitt A	Erntedurchschnitt B	Ammonsulfat Proz.	Erntedurchschnitt A	Erntedurchschnitt B
0,03	32	—	0,5	68	60
0,06	37	34	1	79	77
0,125	47	38	2	80	83
0,25	52	43	4	—	94

A bedeutet 4 Tage und B 6 Tage Versuchsdauer.

20 Proz. Saccharose.

Ammonsulfat Proz.	Erntedurchschnitt nach 5 Tagen	Ammonsulfat Proz.	Erntedurchschnitt nach 5 Tagen
0,125	46	2	81
0,25	58	4	72
0,5	61	8	12
1	77		

Besprechung der Ergebnisse.

Als allgemein gültig für die verschiedenen Zuckerlösungen bei Aspergillus und Mycoderma ist zu bemerken, daß innerhalb weiter Grenzen mit steigender Stickstoffgabe erhöhte Erntegewichte erzielt werden. Bei allen Zuckerkonzentrationen bis etwa 0,25 Proz. $(NH_4)_2SO_4$ tritt zwischen Stickstoffgabe und Mycelentwicklung an Aspergillus Proportionalität ein, dann steigen die Erntegewichte langsamer als die Ammonmengen und fangen sogar bei höherer Konzentration wieder an zu fallen. Die Maxima der Entwicklung sind bei um so höherem Stickstoffgehalt, je größer der Zuckergehalt: dies trifft sowohl bei Mycoderma, als auch bei Aspergillus zu. Bei Mycoderma ist Proportionalität zwischen Stickstoffzufuhr und Pilzsubstanz selten zu finden, höchstens bei den allerniedrigsten Zucker- und Ammonkonzentrationen. Überhaupt verläuft hier die Pilzentwicklung innerhalb viel engerer Wertgrenzen als bei Aspergillus. Das Maximum der Kurve liegt allgemein um so tiefer, je kürzer die Versuchszeit war.

Bei reichlicher Zuckerzufuhr werden naturgemäß noch höhere Stickstoffgaben ausgenutzt als bei kleinen. Sinkt andererseits der Stickstoffgehalt unter einen bestimmten Betrag, so können die reichlichsten Kohlenstoffquellen nicht ausgenutzt werden, und der Pilz vegetiert kümmerlich dahin. Ebenso können bei kleinen Zuckergaben große Stickstoffmengen nicht verarbeitet werden. Ein Beispiel soll das zeigen: 20 Proz. Zucker und 0,015 Proz. Ammonsulfat ergeben ein Erntegewicht von 77 mg, bei 1 Proz. Ammonsulfat und der gleichen Zuckermenge beträgt es 700 mg. 1,25 Proz. Zucker und 1 Proz. Ammonsulfat ermöglichen ein Erntegewicht von 67 mg, die gleiche Zuckermenge und 0,015 Proz. Ammonsulfat nur ein solches von 18 mg.

Die Kurven von Aspergillus und Mycoderma haben jedesmal unter sich bei allen Zuckerprozentsätzen denselben Charakter und ganz ähnlichen Verlauf. Nur werden naturgemäß bei höheren Zuckergaben numerisch viel höhere Werte erreicht werden.

Zwischen der Wirkungsweise des Ammonsulfats und der des primären Ammonphosphats ist kein großer Unterschied. Ammonnitrat drückt rasch das Erntegewicht (20 Proz. Saccharose), vielleicht kann man sich dabei auf die von *Ritter* (l. c.) gemachten Angaben berufen, daß Aspergillus gegen frei werdende Salpetersäure empfindlicher ist als gegen Schwefel- und Phosphorsäure.

IV. Zusatz von Pepton zur Normalnährlösung.

Zu der bekannten Nährlösung mit anorganischer N-Quelle, die den doppelten Nährsalzgehalt hatte, wurden sukzessive kleine Peptonmengen gereicht.

Aspergillus niger.

10 Proz. Saccharose.

Peptonzusatz Proz.	Erntedurchschnitt nach 4 Tagen	Erntedurchschnitt nach 8 Tagen
0,05	678	—
0,1	715	674
0,2	773	—
0,4	787	753
ohne	576	574

20 Proz. Saccharose.

Peptonzusatz Proz.	Erntedurchschnitt nach 8 Tagen	Peptonzusatz Proz.	Erntedurchschnitt nach 8 Tagen
0,2	1046	1,6	1323
0,4	1169	ohne	964
0,8	1269		

Mycoderma cerevisiae.

10 Proz. Saccharose.

Pepton Proz.	Erntedurchschnitt nach 4 Tagen
0,05	51
0,1	54
0,2	59
0,4	74

Pepton Proz.	Erntedurchschnitt nach 8 Tagen	Pepton Proz.	Erntedurchschnitt nach 8 Tagen
0,045	53	0,36	79
0,08	59	0,7	114
0,18	72	ohne	50

20 Proz. Saccharose.

Pepton Proz.	Erntedurchschnitt A nach 4 Tagen	Erntedurchschnitt B nach 3 Tagen
0,1	89	51
0,2	101	64
0,4	126	86
0,8	148	—
1,6	196	—
ohne	78	—

Besprechung der Ergebnisse.

Bei Aspergillus sind mit steigenden Peptongaben nicht nur deutlich wahrnehmbare Ertragserhöhungen zu beobachten, sondern es wird vor allem durch Peptonzusatz die Ausbildung der Pilzdecken erheblich gebessert. Auf 20 Proz. Zucker und 1,6 Proz. Pepton entwickeln sich etwa 2 cm dicke, reich gefältelte Myceldecken. Eine derart üppige Mycelausbildung konnte sonst nirgends an Aspergillus beobachtet werden.

Die Ertragssteigerung bei Mycoderma, die mehr auf organische N-Quellen eingestellt ist, ist prozentual noch viel höher als bei Aspergillus.

V. Pepton als alleinige N-Quelle.

Aspergillus niger.

Versuchsdauer 4 Tage.

Zucker Proz.	Pepton Proz.	Erntedurchschnitt
0,3	0,003	8
0,6	0,006	12
1,25	0,012	12
2,5	0,025	20
5	0,05	50
10	0,1	69

Die Versuchsreihe zeigt wieder ein langsames Ansteigen von 0,3 Proz. Zucker bis 10 Proz. Allerdings scheint der Stickstoff sehr im Minimum zu sein, wie die gedrückten Erntegewichte zeigen.

VI. Abstufung der Phosphormenge.

Normale Nährlösung, in der als Kaliumquelle auf 20 Proz. Saccharose 1 Proz. Kaliumsulfat gereicht wird. Der P wird in Form des primären Natriumphosphats gegeben.

Aspergillus niger. 20 Proz. Saccharose. 7 Tage Versuchsdauer.

Natriumphosphat Proz.	Erntedurchschnitt *)	Natriumphosphat Proz.	Erntedurchschnitt
0,0005	30	0,004	78
0,001	53	0,008	129
0,002	68	0,016	180

*) Siehe Abb. 3.

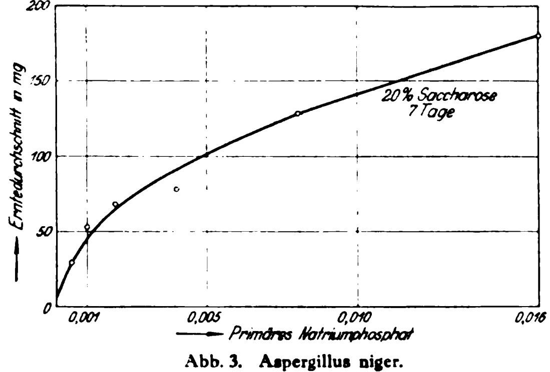


Abb. 3. Aspergillus niger.

Mycoderma cerevisiae. 10 Proz. Saccharose.

1. Hier werden nur 0,05 Proz. Kaliumsulfat auf 10 Proz. Zucker gegeben.

Natriumphosphat Proz.	Erntedurchschnitt nach 4 Tagen
0,005	18
0,01	23
0,05	47
0,1	68

2. 4½ Tage Versuchsdauer.

Natriumphosphat Proz.	Erntedurchschnitt*)	Natriumphosphat Proz.	Erntedurchschnitt
0,005	30	0,1	75
0,01	47	0,5	93
0,05	61	1	110

*) Siehe Abb. 4.

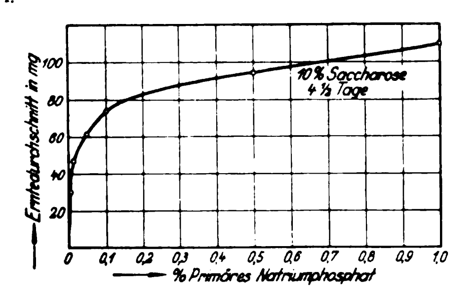


Abb. 4. Mycoderma cerevisiae.

3. 20 Proz. Saccharose. 4 Tage Versuchsdauer.

Natriumphosphat Proz.	Erntedurchschnitt
0,05	70
0,1	90
0,5	107

Besprechung der Ergebnisse.

Sowohl bei Aspergillus als bei Mycoderma ist mit steigenden Phosphormengen eine allmähliche Erhöhung des Erntegewichtes zu beobachten. Die Vermehrung der Pilzsubstanz verläuft aber nur anfangs proportional mit der gegebenen P-Menge. Die Verhältnisse liegen also ähnlich wie bei der Abstufung des Stickstoffs.

VII. Abstufung der Kaliummenge.

Normale Nährlösung, als P-Quelle wird 1 Proz. primäres Natriumphosphat gereicht auf 20 Proz. Saccharose.

Aspergillus niger.

20 Proz. Saccharose. 4 Tage Dauer.

Kaliumsulfat Proz.	Erntedurchschnitt*)	Kaliumsulfat Proz.	Erntedurchschnitt
0,001	53	0,008	140
0,002	73	0,016	226
0,004	92		

*) Siehe Abb. 5.

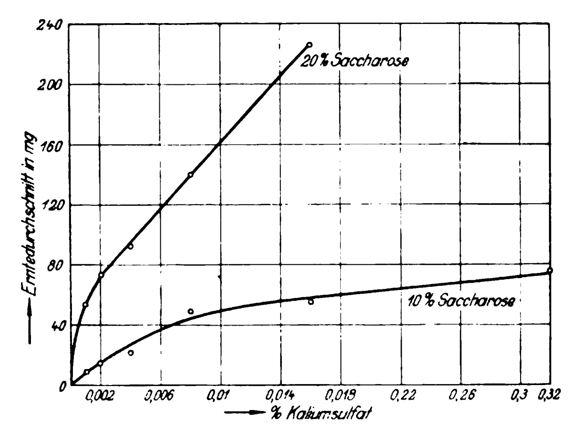


Abb. 5. Obere Kurve: Aspergillus niger, 4 Tage. Untere Kurve: Mycoderma cerevisiae, 6 Tage.

Mycoderma cerevisiae.

10 Proz. Saccharose.

1. 4 Tage Versuchsdauer.		2. 6 Tage Versuchsdauer.	
Kaliumsulfat Proz.	Erntedurchschnitt	Kaliumsulfat Proz.	Erntedurchschnitt *)
0,005	48	0,001	9
0,01	64	0,002	15
0,05	73	0,004	22
0,1	78	0,008	49
0,5	91	0,016	54
1	89	0,032	75

*) Siehe Abb. 5.

Besprechung der Ergebnisse.

Sowohl an Aspergillus als an Mycoderma kann man mit erhöhter Kaliummenge eine Steigerung des Erntegewichts erzielen. In Übereinstimmung mit den Angaben von *Benecke* (l. c.) wurde beobachtet, daß die Erntegewichte langsamer anstiegen als die Kaliumgaben.

VIII. Abstufung der Kalium- und Phosphormenge.

Das primäre Kaliumphosphat stellt hier die Variable dar. Es wird eine kleine Grunddüngung von Kaliumsulfat gereicht (0,01 Proz. auf 20 Proz. Zucker).

Aspergillus niger.

20 Proz. Saccharose.

Prim. Kaliumphosphat	Erntedurchschnitt	
Proz.	A nach 4 Tagen	B nach 5 Tagen
0,125	425	622
0,25	466	632
0,5	525	809
1	585	970

A enthält die normale Nährlösung, B empfängt die doppelte Ammonsulfatmenge wie sonst.

10 Proz. Saccharose.

Prim. Kaliumphosphat	Erntedurchschnitt	
Proz.	A nach 4 Tagen	B nach 3 Tagen
0,125	—	120
0,25	318	150
0,5	338	179
1 2	330	192

A enthält die einfache Ammonsulfatmenge, B die doppelte.

2,50 Proz. Saccharose.

Prim. Kaliumphosphat Proz.	Erntedurchschnitt nach 3 Tagen
0,062	56
0,125	59
0,25	60
0,5	70

1,25 Proz. Saccharose.

Prim. Kaliumphosphat	Erntedurchschnitt	
Proz.	A nach 6 Tagen	B nach 3 Tagen
0,031	92	—
0,062	95	—
0,125	—	39
0,25	117	56
0,5	—	46

Mycoderma cerevisiae.

Kein Kaliumsulfatzusatz in der Nährlösung.

20 Proz. Saccharose. Versuchszeit 5 Tage.

Prim. Kaliumphosphat Proz.	Erntedurchschnitt
0,125	38
0,25	40
0,5	78
1	111

10 Proz. Saccharose.

Prim. Kaliumphosphat	Erntedurchschnitt	
Proz.	A nach 4 Tagen	B nach 4 Tagen
0,125	67	—
0,25	80	93
0,5	87	110
1	73	127

A enthält 1 Proz. Ammonsulfat, B enthält 1/2 Proz. Ammonsulfat auf 10 Proz. Zucker.

5 Proz. Saccharose. Versuchszeit 4 Tage.

Prim. Kaliumphosphat Proz.	Erntedurchschnitt
0,06	34
0,125	40
0,25	49
0,5	76

Besprechung der Ergebnisse.

Gesteigerte Kaliumphosphatzufuhr übt fast durchweg einen günstigen Einfluß aus. Aus den früher mitgeteilten Versuchen ersehen wir, daß hierbei sowohl Phosphor als auch Kalium einen Einfluß ausüben. Die gewählten Konzentrationen liegen allerdings etwas hoch, aber über die niederen Werte ist schon an anderem Orte hier das Nötigste erwähnt worden.

IX. Abstufung der Gesamtnährlösung mit und ohne Eisenzusatz.

Zur Anwendung gelangte die bekannte Nährlösung. Versuchsdauer 9 Tage.

Zucker	Erntedurchschnitt *)	
Proz.	ohne Ferrisulfat	0,005 Proz. Ferrisulfat
1,25	60	67
2,5	79	100
5	134	150
10	251	320
20	364	680
40	570	1260

*) Siehe Abb. 6.

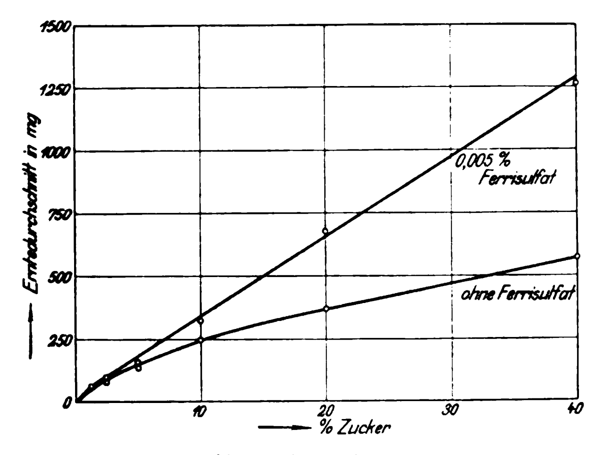


Abb. 6. Aspergillus niger.

Durch Eisenzusatz wird besonders bei den stark konzentrierten Lösungen das Erntegewicht wesentlich erhöht. Die Proportionalität zwischen Nährstoffmenge und Pilzansatz ist bei der *Eisenreihe* bedeutend besser, besonders in den hohen Konzentrationen, und es hat den Anschein, als ob der Pilz diese bei Gegenwart bestimmter Mengen von Eisen besser auszunutzen vermag.

Besprechung der Ergebnisse.

Das vorhandene Material soll zunächst vom ernährungsphysiologischen Standpunkt aus kritisch betrachtet werden, und es soll dabei gelegentlich zur vorhandenen Literatur Stellung genommen werden.

Der Zweck der Untersuchungen war es, ein genaues Bild zwischen einer gegebenen, wohl bekannten Nährstoffmenge und der daraus entstehenden Pilzsubstanz in quantitativer Hinsicht zu erzielen. Mit dem Allgemeinsten soll begonnen werden, nämlich der Abstufung der Gesamtnährlösung mit allen ihren Komponenten. Aspergillus, das eine Versuchsobjekt, ist dank seiner Widerstandsfähigkeit gegen osmotische Hemmungen ganz ausgezeichnet befähigt, sehr stark konzentrierte Zuckerlösungen auszunutzen, eine Tatsache, die schon früher von *E. G. Pringsheim* beobachtet wurde. Proportionalität zwischen Pilzsubstanz und gegebenen Nährstoffen ist bis 20 Proz. zu erzielen. Die anderen hier geprüften Pilze sind nicht annähernd in dem Maße befähigt, hohe Zuckerkonzentrationen ökonomisch zu verwerten. Bei Mycoderma ist wenigstens in den niederen Gliedern der Reihe die Erhöhung der Erntegewichte recht bedeutend. Bei Amylomyces verläuft dagegen der Anstieg durchweg recht allmählich. Wir sehen also, daß die geprüften Objekte ein recht verschiedenes Verhalten zeigen, allen gemeinsam ist nur der Anstieg, derselbe verläuft aber nicht in derselben Weise und man findet nicht bei denselben Nährlösungskonzentrationen übereinstimmende Neigungswinkel.

Interessant sind die Versuche mit und ohne Eisenzusatz an Aspergillus. Hier muß eigens betont werden, daß die Versuche mit reinster Saccharose ausgeführt wurden, denn bei Anwendung gewöhnlichen Rohrzuckers macht sich der fördernde Einfluß geringer Eisenmengen wegen der Unreinheit der Substanz nicht geltend. Diese Tatsache, daß der Einfluß geringer Metallsalzzusätze nur bei Verwendung sehr reiner Substanz zutage tritt, hat jedenfalls für das Problem des Studiums der Reizwirkungen große Bedeutung und mag durch seine Vernachlässigung widersprechende Resultate hervorgerufen haben[1]). Wenn wir nun wieder zu den Eisenversuchen zurückkehren, so ist die bessere Verwertung der Zuckerlösungen, besonders hochkonzentrierter, bei dem geringen Eisenzusatz auffallend. Hier ist man unbedingt geneigt, sich der Ansicht *E. G. Pringsheims* anzuschließen, der die gleiche Erscheinung bei Zinkzusatz beobachtete und sie in dem Sinne auslegte, daß die Zinkspuren eine bessere Ausnutzung der Nährlösung bedingen. Tatsächlich wird in den Versuchen hier und dort die Proportionalität im Vergleich zu den an Eisen- bzw. Zinkzusatz freien Lösungen stark gebessert. Bei *Richards* finden wir eine ähnliche Bemerkung von

[1]) *E. G. Pringsheim*, l. c., S. 606.

Pfeffer, daß durch geringe Zinkzusätze die Pilzentwicklung haushälterischer vor sich ginge. *Butkewitsch* und *Orloff* beschäftigen sich mit ähnlichen Fragen, und zwar sprechen sie von der Steigerung des ökonomischen Koeffizienten, d. h. der Ausnutzung des Zuckers für den Ansatz an Pilzsubstanz. Durch Zusatz bestimmter, früher zitierter Stoffe gelingt es ihnen, tatsächlich diesen Koeffizienten zu bessern. Nach diesen Ausführungen ist es entschieden erlaubt zu sagen, daß durch Eisenzusätze hochkonzentrierte Zuckerlösungen *besser ausgenutzt* werden.

Gibt man zu unserer Normalnährlösung kleine Peptonmengen, so wird trotz gleichzeitiger Anwesenheit ausreichender anorganischer N-Quellen das Pilzwachstum bedeutend gebessert. Besonders von Mycoderma werden recht ansehnliche Peptonmengen ausgenutzt. Aspergillus wird in seiner Deckenbildung durch Pepton gefördert, derart mächtige Decken wurden bei keinem anderen Versuch beobachtet. Sie sind jedoch im Gegensatz zu den ohne Pepton gezogenen durch starke Brüchigkeit gekennzeichnet, so daß es unmöglich ist, sie im ganzen aus dem Kolben zu entnehmen.

Stuft man nur *ein* Nährelement ab, so ist naturgemäß der Einfluß nicht so markant wie bei der Abstufung der ganzen Nährlösung. Zunächst der *Stickstoff*. Eine *strenge* Proportionalität ist bei Aspergillus nur für die niedrigsten Konzentrationen von Zucker und Stickstoff zu beobachten. Die Wirkung des Stickstoffs ist sehr stark von den übrigen Bedingungen abhängig. Auch bei geringen Stickstoffmengen wird durch eine Verbesserung der anderen Faktoren, vor allem durch Erhöhung der Zuckermenge, der Ertrag noch vermehrt, also der Stickstoff besser ausgenutzt. Das gilt natürlich nur bis zu einem gewissen Punkte, wird die Stickstoffmenge zu gering, so hat auch eine weitere Verbesserung der anderen Faktoren keinen Einfluß mehr.

Aspergillus vermag sehr hohe Stickstoffmengen vorteilhaft auszunutzen, wie aus den namhaften Vergrößerungen der Erntegewichte in der Stickstoffreihe zu ersehen ist. Bei Kalium und Phosphor ist kein so lang andauernder Anstieg zu beobachten wie bei Stickstoff. 0,1 Proz. Kaliumsulfat ist völlig ausreichend zur Ausführung der Stickstoffversuche bei 20 Proz. Zucker, die bis 4 Proz. einen bedeutenden Ernteanstieg zeigen. Eine Erhöhung der Kaliumphosphatmenge von 0,125 bis auf 1 Proz. brachte selbst bei reichlicher N-Gabe keine weitere Vermehrung der Erntegewichte mehr. Ein starker Einfluß macht sich nur bei der Erhöhung geringer Kalium- und Phosphorgaben geltend. Daraus kann man deutlich *zahlenmäßig* ersehen, daß der Bedarf des Pilzes an Stickstoff ein bedeutend größerer ist als an Kalium und Phosphor. 0,01 Proz. Kalium- bzw. Phosphorzusatz ist schon sehr reichlich, wogegen die gleiche Stickstoffmenge nur ein sehr kümmer-

liches Wachstum ermöglicht. Hier sei wieder an die Versuche von *Benecke* erinnert, der angibt, daß eine Erhöhung der Kaliummenge von 0,02 Proz. an keinen großen Einfluß mehr ausübt.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, daß allgemein für Kalium, Phosphor und Stickstoff die gleichen Regeln gelten. Durch gesteigerte Zufuhr des relativ in geringer Menge vorhandenen Stoffes kommt es bei allen dreien zu einem Anstieg, bei dem meist zwischen Nährstoffmenge und Erntegewicht Proportionalität nur innerhalb bestimmter Grenzen herrscht, die bei Aspergillus viel weiter sind als bei Mycoderma.

Bei Mycoderma liegen die Verhältnisse bezüglich Stickstoff, Phosphor und Kalium etwas anders. Proportionalität wird meistens nicht erzielt. Durch Zusatz geringer Mengen organischen Stickstoffs bei Gegenwart anorganischer Stickstoffquellen wird das Wachstum stark erhöht. Reichen wir nur anorganischen Stickstoff, so ist der Anstieg sehr schwach und wir erhalten flache Kurven. Diese Tatsache ist gar nicht verwunderlich, halten wir nur in der Literatur Umschau, so finden wir ähnliche Ergebnisse. Es sei nur an die Beobachtungen *H. Pringsheims* erinnert, der bei einer Logoshefe durch Erhöhung der Peptongaben einen bedeutenden Ertragsanstieg erzielte. Fütterte er nur mit Ammonsulfat, so war der Anstieg von kurzer Dauer und schwächer. Sehr gut wird von Mycoderma der Phosphor verwendet, eine reichliche P-Quelle ist hier ebenso wichtig wie entsprechende N-Zufuhr. Ähnliches gilt auch für das Kalium.

Im folgenden wenden wir uns nun dem zweiten Teil der Besprechung der Versuchsergebnisse zu, und zwar

Zur Frage des Minimumgesetzes.

Aus den Tabellen und Kurven ersehen wir, daß es an Hand von Pilzkulturen nicht schwer ist, den zahlenmäßigen Zusammenhang zwischen gereichten Nährstoffen und Ernteertrag zu bestimmen. Im folgenden soll nun der Versuch gemacht werden, die hier ermittelten Zahlenverhältnisse mit den bei höheren Pflanzen gewonnenen zu vergleichen.

Dabei erscheint es zunächst nötig, einen Überblick über die einschlägige Literatur zu geben. Die quantitativen Beziehungen zwischen Wachstumsfaktoren und Ernteertrag bildeten seit *Liebig* (l. c.) den Gegenstand angeregten Studiums. Wie wir wissen, ist bei den höheren Pflanzen wie auch bei den Pilzen eine Anzahl von Nährstoffen zur normalen Entwicklung nötig. Die dabei in Frage kommenden Nährstoffe sind wohl bekannt; desgleichen wissen wir, daß der Pflanzenertrag von der *Menge* der im Boden befindlichen Nährstoffe abhängt.

Diese Abhängigkeit wird nach *Liebig* folgendermaßen gefaßt: „Der Pflanzenertrag richtet sich nach dem Faktor, der verhältnismäßig in das Minimum gesetzt ist.“ Danach kann der Ertrag von einem einzigen Wachstumsfaktor begrenzt werden, ist dieser in zu geringem Ausmaß vorhanden, so wird er die Entwicklung in *seinen* Grenzen halten. Steigert man nun die Menge des Minimumfaktors, so muß auch der Ertrag steigen. Aber in welchem Verhältnis geschieht das nun? Darüber hat *Liebig* nichts gesagt! *Paul Wagner*, dessen Arbeiten in den Anfang des Jahrhunderts fallen, sieht diese Ertragssteigerung als proportional zur Düngergabe an, allerdings auch mit einer Einschränkung. Diese beginnt bei dem Punkte, wo noch ein zweiter Faktor ins Minimum tritt und so den Ertrag beherrscht. Will man das Gesagte graphisch darstellen, so erhält man eine erst steile Kurve, die mit einem scharfen Knick in die Horizontale übergeht.

Auf diesen ältesten Anschauungen bauen nun *Mitscherlich* und seine Schule weiter. Sie lassen den alten Namen *Minimumgesetz* fallen und bezeichnen die studierten Gesetzmäßigkeiten „als das Wirkungsgesetz der Wachstumsfaktoren“. Dieses Gesetz sagt aus, daß der Pflanzenertrag nicht von einem, sondern von sämtlichen Wachstumsfaktoren bedingt wird. Jeder Nährstoff kann das Wachstum unabhängig von den anderen Wachstumsfaktoren fördern. Allerdings ganz kann der Minimumbegriff auch nicht umgangen werden, sinkt ein Stoff seiner Menge nach allzu tief, so wird er den Ertrag in seinen Grenzen halten. Das Gesetz wird nun mathematisch eingekleidet. Zu diesem Zwecke werden in einem Vegetationsversuch alle Wachstumsfaktoren bis auf einen tunlichst konstant gehalten. Nun wird beobachtet, wie mit der Steigerung dieses einen Stoffes der Ertrag zunimmt, und es wird gefunden, daß die Ertragssteigerung proportional dem am Höchstertrag noch fehlenden Ertrag ist. Ist die Größe des abgestuften Wachstumsfaktors x, der jeweilige Ertrag y, so ist nach *Mitscherlich* die relative Ertragssteigerung, wenn A der Höchstbetrag und k die Konstante ist[1]):

$$\frac{dy}{dx} = k \, . \, (A - y) \tag{1}$$

Integriert gibt das

$$\log (A - y) = C - kx \tag{2}$$

Im Jahre 1909 bringt *Mitscherlich* seine Formel zum erstenmal an die Öffentlichkeit. Sie erregt natürlich zunächst Staunen und wird

---

[1]) *E. Mitscherlich*, Landwirtsch. Jahrb. **12**, 38, 1909; *E. Mitscherlich* und *Floss*, ebendaselbst **48**, 64, 1912; *E. Mitscherlich*, ebendaselbst **56**, 1921; **58**, 601, 1923; *E. Mitscherlich* und *H. Wagner*, ebendaselbst **58**, 1923.

einer kritischen Betrachtung unterzogen. *Pfeiffer*[1]), dessen Thesen von *Mitscherlich* stark angegriffen wurden, trachtet zwischen der alten und neuen Auffassung zu vermitteln. Er stellt die Erträge als Funktion des im Minimum befindlichen Stoffes dar. Mit der geradlinigen Ertragssteigerung kommt er aber auch nicht mehr aus. Es wird eine Kurve angenommen und für sie nachstehende Formel supponiert:

$$y = a + bx + cx^2 \ldots$$

Durch solche Reihen kann man jede Kurve ausdrücken, falls man genügend Glieder benutzt.

Im Laufe der Jahre gelang es *Mitscherlich* und seiner Schule, für seine Anschauung, daß zwischen gegebener Nährstoffmenge und der erzielten Ertragssteigerung eine logarithmische Abhängigkeit bestehe, eine große Menge Versuchsmaterial zu erbringen. Durch das zahlreiche Beweismaterial, das veröffentlicht werden konnte, sind die anderen Anschauungen mehr und mehr in den Hintergrund gedrängt worden, und das *Mitscherlich*sche Gesetz bildete den Ausgangspunkt für weitere Studien, in denen es teils umgebaut, teils einer Kritik unterzogen wird. *Mitscherlich* tritt ganz energisch für die folgende Formulierung ein, die wegen ihrer Wichtigkeit wiedergegeben sei. „Der Pflanzenertrag steigt mit der Steigerung eines jeden Wachstumsfaktors mit einer dem betreffenden Faktor eigenen Intensität, und zwar derart, daß die Ertragssteigerung mit der Zuführung dieses Wachstumsfaktors dem an einem Höchstertrag fehlenden Ertrag proportional ist.“ Will man die dazu passende Kurve entwerfen, so erhält man einen steilen Anstieg, der flacher wird und sich ohne Knick der Horizontalen nähert. *Baule*[2]) formuliert das *Mitscherlich*sche Gesetz etwas anders, aber die Grundgedanken sind die gleichen.

Der schwächste Punkt der *Mitscherlich*schen Formulierung, der auch am meisten, besonders von *Rippel*, angegriffen wurde, ist die Fixierung der Konstanten, die allgemein für jeden Wachstumsfaktor als konstant angenommen werden. k ist der Faktor, der den rascheren oder langsameren Anstieg der Kurve bedingt. Es wird als Wirkungswert des Wachstumsfaktors bezeichnet und soll für jeden Wachstumsfaktor unabhängig von den anderen Wachstumsfaktoren bei einer bestimmten Pflanze konstant sein. *Mitscherlich* und *Baule* kommen erst theoretisch zu diesen Ergebnissen und trachten, sie dann mit den praktischen Erfahrungen in Einklang zu bringen. Diese Ansicht über die Werte der Konstanten steht im Gegensatz zu den Angaben von

[1]) *Pfeiffer*, Landwirtsch. Versuchsst. **77**, 413, 1912; **78**, 131, 437, 1912; *Pfeiffer*, *Blank* und *Flügel*, ebendaselbst **78**, 1912; *Pfeiffer* und *Simmermacher*, Journ. f. Landwirtsch. **67**, 1.

[2]) *B. Baule*, Zu *Mitscherlichs* Gesetz der physiologischen Beziehungen. Landwirtsch. Jahrb. **51**, 363.

Rippel[1]), der auf Grund seiner Versuche den Nachweis erbringt, daß z. B. bei *Stickstoff* mit steigender Zufuhrmenge an Maispflanzen die Wachstumskonstante steigt. Ebenso werden von *Romell*[2]) die *Mitscherlich*schen Wachstumskonstanten und auch der Wert des Maximalertrages angezweifelt. Ferner sieht er einen Mangel darin, daß in der Produktionskurve einem möglichen Abfall, infolge der Nährstofferhöhung, kein Platz eingeräumt ist. Gleichzeitig wendet er sich auch gegen das alte Minimumgesetz und die Wichtigkeit, die dort dem im Minimum befindlichen Stoffe gezollt ist. Die Ausführungen *Reinans*[3]) enthalten Angriffe stark polemischer Natur gegen *Mitscherlich* und seine Schule.

Walter prüft in einer theoretischen Abhandlung die gesamten hier aufgerollten Fragen und bringt auf Grund sehr einleuchtender Überlegungen die Produktionskurve in Übereinstimmung mit dem Massenwirkungsgesetz[4]). Mit dem Werte, den die Mathematik für die exakte Darstellung biologischer Probleme hat, beschäftigt sich *Christiansen-Weniger*. Zusammenfassend kann man dieser Arbeit entnehmen, daß sicherlich in der Biologie die mathematische Theorie anzustreben sei, doch wird es stets schwer zu erreichen sein, daß das vorhandene Material diesen Bedingungen entspreche. Die Anwendung der Mathematik als Hilfswissenschaft, dabei ist an die Fehlerwahrscheinlichkeitsrechnung zu denken, wird jederzeit möglich sein. Bezüglich der *Mitscherlich*schen Kurve wird angeführt, daß es sich hier um kein Naturgesetz handeln könne, da jede Zurückführung der Erscheinung auf allgemeine Gesetzmäßigkeiten fehlt. Nach ihm handelt es sich „um eine Regel der äußeren Erscheinung, wobei vollkommen unerörtert bleiben kann, ob diese tatsächlich in allen Fällen zu Recht besteht“[5]).

Im Jahre 1914 schrieb *Pringsheim* (l. c., S. 605): „Zur mathematischen Formulierung der Gesetzmäßigkeiten wären meiner Meinung nach viel ausgiebigere experimentelle Grundlagen nötig, als zurzeit zu Gebote stehen.“ Wenn das auch heute nicht mehr in dem Maße

---

[1]) *A. Rippel* und *O. Ludwig*, Untersuchungen über physikalische Gleichgewichtszustände bei Pflanzen. Über die Abhängigkeit der Wachstumsfaktoren bei Zea Mais von der Größe der N-Ernährung. Diese Zeitschr. **155**, 123, 1925.

[2]) *Romell Lars*, Das Zusammenwirken verschiedener Produktionsfaktoren (schwedisch), zit. Bot. Centralbl. 1924.

[3]) *E. Reinan*, Kritische Bemerkungen zum Wirkungsgesetz der Wachstumsfaktoren bei Kohlensäuredüngung. Angew. Bot. 4, 361, 1924.

[4]) *H. Walter*, Theoretische Betrachtungen über die Beziehungen der *Mitscherlich*schen Produktionskurve und des *Weber-Fechner*schen Gesetzes. Die Naturw. **12**, Heft 2, 1925.

[5]) *J. Christiansen-Weniger*, Mathematische Probleme in der Biologie. Die Naturw. **13**, Heft 26, 1925.

gilt, so erscheint es doch gewiß lohnend, den Versuch zur mathematischen Ausdeutung meiner Ergebnisse zu machen, wäre es auch nur, um festzustellen, ob es sich um allgemeine biologische Regeln handelt. Eine Anlehnung an die von *Mitscherlich* gefundene Formel erscheint möglich.

Mitscherlich wendet sich gegen die von *Liebig* ausgesprochene These, daß der Pflanzenertrag nur von dem einen im Minimum befindlichen Stoffe abhänge. In folgendem Versuch haben wir z. B. den N in Form des Ammonsulfats ins Minimum gesetzt.

0,03 Proz. Ammonsulfat.

Zucker Proz.	Ertrag an Aspergillusdecke nach 6 Tagen mg	Zucker Proz.	Ertrag an Aspergillusdecke nach 6 Tagen mg
1,25	20	10	42
2,50	31	20	56
5	43		

Wie wir aus früheren Versuchen wissen, ist 0,03 Proz. $(NH_4)_2SO_4$ eine sehr geringe N-Menge.

Nach *Liebig* müßten bei allen Zuckerkonzentrationen annähernd gleiche Werte sein, da N den Minimumfaktor darstellt und durch seine geringe Menge den Ertrag in seinen Grenzen halten sollte. Der hier mitgeteilte Versuch zeigt deutlich, daß durch Erhöhung der Zuckermenge der Ertrag, trotz geringer Stickstoffmengen, noch erhöht werden kann.

Selbst bei noch geringeren N-Mengen ist die Ertragssteigerung durch Besserung der anderen Faktoren noch erkennbar.

0,01 Proz. Ammonsulfat.

Zucker Proz.	Ertrag an Aspergillusdecke mg	Zucker Proz.	Ertrag an Aspergillusdecke mg
1,25	13	10	23
2,50	14	20	24
5	22		

Zu beiden Versuchen wurde reinste Saccharose verwendet, die Nährlösung war von der normalen Beschaffenheit, nur daß Eisenspuren zugegeben wurden.

Auch weiterhin läßt sich mit der *Mitscherlich*schen Formulierung Übereinstimmung finden. Die allgemeinste Form der Produktionsgleichung nach *Mitscherlich* ist mit $C = \log(A - A_0)$ für $x = 0$ und $y = A_0$

$$\log(A - y) = \log(A - A_0) - kx^{\gamma} \qquad (3)$$

wobei $y = A_0$ der Höchstertrag ist, wenn der Wachstumsfaktor $x = 0$ ist. Der Exponent β wird in der Regel 1 gesetzt, bei einer Versuchsreihe setzt allerdings *Mitscherlich* $\beta = {}^3/_2$. Man kann nun den Anfangszustand für $x = 0$ auch ausdrücken, indem man

$$\log (A - A_0) = \log A - kb \tag{4}$$

setzt. Dann nimmt die Produktionskurve mit $\beta = 1$ die Form an:

$$\log (A - y) = \log A - k (x + b) \tag{5}$$

Zur Ermittlung der Konstanten A und k aus einer gegebenen Kurve oder Tabelle greift man drei Punkte $(x_1 y_1)$, $(x_2 y_2)$, $(x_3 y_3)$ so heraus, daß $(x_2 - x_1) = (x_3 - x_2)$ wird. Dann folgen daraus drei Gleichungen:

$$\log \left(\frac{A - y_1}{A - y_2}\right) = k\,(x_2 - x_1) = \log \left(\frac{A - y_2}{A - y_3}\right) = k\,(x_3 - x_2). \tag{6}$$

Woraus sich ergibt:

$$A = \frac{y_2^2 + y_1 y_3}{2\,y_2 - (y_1 + y_3)} \tag{7}$$

und

$$k = \frac{\log (A - y_1) - \log (A - y_2)}{x_2 - x_1} = \frac{\log (A - y_2) - \log (A - y_3)}{x_3 - x_2}. \tag{8}$$

Aus (5) folgt in einfacher Weise der Wachstumsfaktor x zu

$$x = \left[\frac{1}{k} \log \left(\frac{A}{A - y}\right)\right] - b. \tag{9}$$

Dagegen ergibt sich die wichtigere Beziehung, nämlich die Ermittlung des jeweiligen Ertrages y aus (5) durch Potenzieren zu

$$y = A\,[1 - e^{-k(x+b)}] \tag{10}$$

oder

$$y = A\,(1 - e^{-kx}) + A_0\,e^{-kx} \tag{11}$$

mit $e = 2{,}71\ldots$

Ist der Ertrag y von mehreren Wachstumsfaktoren $x, z, w\ldots$ abhängig, so gilt mit $b = 0$ einfach

$$y = A\,(1 - e^{-kx})\,(1 - e^{-kz})\ldots \tag{12}$$

Das erste Stück all dieser Kurven vom Ursprung ab ist eine Gerade mit der Gleichung

$$y = Ak\,(y + .b).$$

Wenden wir nun diese Beziehungen auf unsere Versuche an, so ergibt sich bei Aspergillus niger für Abb. 1 oben die Gleichung: $y = 41\,x$.

	x = Proz. Zucker					
	1,25	2,5	5	10	20	
y ber.	51	103	205	410	820	Ertrag*)
y gem.	61	134	189	422	824	

*) ber. = berechnet, gem. = gemessen.

Für Abb. 1 unten:

$$\log (300 - y) = 5{,}704 - 0{,}11\, x$$

oder

$$y = 300 \,(1 - e^{-0{,}11\, x})$$

	x = Proz. Zucker				
	0,65	2,5	5	10	
y ber. . . .	21	72	126	201	Ertrag
y gem. . . .	30	82	127	200	

Für Abb. 2 oben:

$$\log (900 - y) = 6{,}802 - 2{,}5\, (x + 0{,}01)$$

oder

$$y = 900 \,[1 - e^{-2{,}5\, (x + 0{,}01)}]$$

	x = Proz. $(NH_4)_2SO_4$									
	0,015	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	
y ber.	55	144	260	430	648	828	890	900	900	Ertrag
y gem.	77	125	265	478	613	695	887	1085	937	

Für Abb. 3:

$$\log (200 - y) = 5{,}298 - 130\, (x + 0{,}007)$$

oder

$$y = 200 \,[1 - e^{-130\, (x + 0{,}007)}]$$

	x = Proz. primäres Natriumphosphat						
	0,00005	0,001	0,002	0,004	0,008	0,016	
y ber. . . .	29	40	56	92	136	178	Ertrag
y gem. . .	30	53	68	78	129	180	

Für Abb. 5 oben:

$$\log (270 - y) = 5{,}598 - 100\, (x + 0{,}001)$$

oder

$$y = 270 \,[1 - e^{-100\, (x + 0{,}001)}]$$

	x = Proz. K_2SO_4					
	0,001	0,002	0,004	0,008	0,016	
y ber. .	49	70	105	159	221	Ertrag
y gem. .	53	73	92	140	226	

Alle Kurven für Pilze haben *also auch* ausgesprochen den *logarithmischen Charakter*, wie ihn *Mitscherlich* für höhere Pflanzen angegeben hat, und die vorstehenden Rechnungen und Tabellen zeigen uns ganz eindeutig, daß es möglich ist, mit den an Pilzen gefundenen Werten die Berechnungen im Sinne *Mitscherlichs* auszuführen. Damit ist jedenfalls ein neuer Beweis für die Richtigkeit der *Mitscherlich*schen Gedanken erbracht.

Hauptergebnisse.

1. Bei Abstufung der Konzentration der Gesamtnährlösung wird bei Aspergillus bis 20 Proz. Zucker Proportionalität erzielt, die anderen geprüften Pilze sind nicht befähigt, derart hohe Zuckerlösungen vorteilhaft auszunutzen.

2. Die Zeit übt einen wesentlichen Einfluß aus. Ist die Versuchszeit sehr lange, so kommt es zu einem Abbau der Substanz.

3. Bei Erhöhung der N-, K- und P-Zufuhr beobachtet man ein Steigen der Erntegewichte, das innerhalb gewisser Grenzen proportional der Erhöhung der Nährstoffmenge ist.

4. Durch Zusatz organischer N-Quellen bei Gegenwart ausreichender anorganischer N-Quellen wird das Erntegewicht weiter erhöht.

5. Durch geringe Eisenzusätze wird die Normalnährlösung, besonders höherer Konzentration, besser ausgenutzt.

6. In den mitgeteilten Versuchszahlen ist eine Bestätigung der *Mitscherlich*schen Produktionskurve zu finden.

Über die Wirkung der Blausäure auf die alkoholische Gärung.

Von

Otto Warburg.

(Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie, Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 7. September 1925.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

E. Buchner, *H. Buchner* und *M. Hahn* fanden [1]), daß Blausäure in 0,44 mol. Konzentration die Vergärung von Zucker durch Hefepreßsaft hemmt. Ich habe mich gefragt, ob die Blausäure hier, wie die Narkotica [2]), unspezifisch auf die Preßsaftkolloide wirkt oder ob eine chemische Reaktion vorliegt.

Zur Beantwortung dieser Frage vergleichen wir die Adsorption und die Wirkung der Blausäure mit der Adsorption und der Wirkung eines Narkoticums, und wählen als Vergleichsnarkoticum Acetonitril, das zu den schwächsten Narkotica gehört.

Zunächst vergleichen wir die Adsorption von Blausäure und Acetonitril. Bezeichnen wir mit a die adsorbierten Mengen, mit c die Konzentrationen in der Lösung, die mit a im Gleichgewicht sind, so ist für *Merck*sche Blutkohle [3]):

	c Mole/Liter Lösung	a Mikromole/g Kohle
Acetonitril . . .	0,17	1500
Blausäure . . .	0,17	790

Bei gleichem c ist a für Acetonitril größer als für Blausäure, Acetonitril wird stärker adsorbiert als Blausäure.

---

[1]) *E. Buchner*, *H. Buchner* und *M. Hahn*, Die Zymasegärung, S. 181. München 1903.

[2]) *O. Warburg* und *R. Wiesel*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **144**, 465, 1912.

[3]) Näheres über die Adsorption der Narkotica und der Blausäure diese Zeitschr. **119**, 134, 1921. Nach den dort mitgeteilten Zahlen habe ich die Adsorptionskurve der Blausäure gezeichnet, die man in Abschnitt V dieser Arbeit findet.

Weiterhin vergleichen wir die Wirkung von Blausäure und Acetonitril auf Hefepreßsaft. Um durch Acetonitril eine starke Gärungshemmung zu erzielen [1]), müssen wir 80 g oder 2 Mole des Narkoticums in einem Liter Preßsaft auflösen. Um durch Blausäure eine starke Gärungshemmung zu erzielen, müssen wir nach *Buchner* und *Hahn* 12 g oder 0,44 Mole Blausäure in einem Liter Preßsaft auflösen. Blausäure wirkt also auf die Preßsaftgärung stärker als Acetonitril, obwohl sie schwächer adsorbiert wird.

Da für Narkotica ausnahmslos die Regel gilt, daß sie um so stärker wirken, je stärker sie adsorbiert werden, so folgt aus den angeführten Zahlen mit großer Wahrscheinlichkeit, daß Blausäure auf die Gärung spezifisch-chemisch wirkt. Immerhin aber liegt der von *Buchner* und *Hahn* angegebene Blausäurewert von 0,44 Molen so nahe an dem Acetonitrilwert, daß es wünschenswert erschien, die Blausäurekonzentration, bei der eine Gärungshemmung auftritt, genauer zu bestimmen. Dies geschah in den Versuchen, die im folgenden beschrieben werden.

I. Das Versuchsmaterial

war sowohl lebende Hefe als auch Hefesaft nach *A. v. Lebedew*.

Die lebende Hefe war obergärige Hefe (Rasse M des Berliner Instituts für Gärungsgewerbe). 2 g abgepreßte Hefe wurden zweimal mit 100 ccm 0,2 mol. KH_2PO_4-Lösung auf der Zentrifuge gewaschen und dann mit der gleichen Lösung auf ein Volumen von 100 ccm gebracht. Je 1 ccm dieser Suspension wurde für einen Versuch benutzt.

Der Hefesaft wurde aus Unterhefe des Berliner Instituts für Gärungsgewerbe nach der Vorschrift [2]) von *A. v. Lebedew* gewonnen. Die mit Wasser gewaschene und auf der Nutsche abgesaugte Hefe wurde im Faust-Hein-Apparat bei 35° getrocknet. 1 Gewichtsteil Trockenhefe mit 3 Gewichtsteilen Wasser verrieben, wurden 2 Stunden bei 35° gehalten. Dann wurde scharf zentrifugiert und der überstehende hellbraune Saft von dem Sediment abgehoben. Der Saft enthielt 11 Proz. Trockensubstanz und zeigte nur geringe Selbstgärung. Er enthielt überschüssiges freies Phosphat (Zugabe von freiem Phosphat bewirkte keine Zunahme der Gärgeschwindigkeit).

Wurde die Trockenhefe vor Zusatz des Wassers fein zerrieben, so ließ sich der Saft durch Zentrifugieren nicht klären. Die beim Zentrifugieren erhaltene überstehende Flüssigkeit sah weißlich aus (Glykogenkörnchen ?) und zeigte starke Selbstgärung [3]). Da starke Selbstgärung die Versuche kompliziert, wurde solcher Saft nicht verwendet.

---

[1]) Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 144, 465, 1912.

[2]) *A. v. Lebedew*, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. 73, 447, 1911.

[3]) Dasselbe hat *O. Meyerhof* beobachtet. Vgl. *O. Meyerhof*, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. 101, 165, 1918.

II. Die Gärungsmessung

geschah manometrisch, in Gefäßen nach Abb. 1, deren Volumen etwa 20 ccm war. In den Hauptraum wurde 1 ccm Hefesuspension oder 1 ccm *Lebedew*-Saft gegeben, in die Ansatzbirne 0,2 ccm einer 25 proz. Glucoselösung. Der Gasraum wurde mit 5 Vol.-Proz. Kohlensäure in Stickstoff oder mit Stickstoff gefüllt. Die Versuchstemperatur war 19 bis 20°. Nach erfolgtem Temperatur- und Druckausgleich wurde zunächst die Selbstgärung beobachtet, die klein war, und dann der Zucker aus der Birne in den Hauptraum durch mehrmaliges Neigen des Gefäßes herübergespült. Bei dieser Anordnung entging, von der Zeit des Zuckerzusatzes an, keine Minute der Beobachtung.

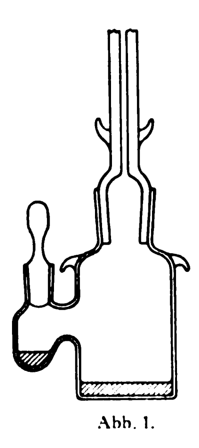


Abb. 1.

Betrug die Zunahme des Kohlensäuredruckes h_{CO_2} mm Brodie (10000 mm Brodie = 760 mm Hg), so war die gebildete Gärungskohlensäure in Kubikmillimetern

$$x_{CO_2} = h_{CO_2} \cdot k_{CO_2},$$

wo k_{CO_2} die Gefäßkonstante für Kohlensäure bedeutet.

Da bei der sauren Reaktion der Versuchsflüssigkeiten Kohlensäure nicht retiniert wurde, so war k_{CO_2} nach der einfachen Formel

$$k_{CO_2} = \frac{v_G \frac{273}{T} + v_F \alpha_{CO_2}}{10000}$$

zu berechnen (v_G Volumen des Gasraumes, v_F-Volumen der Flüssigkeit, beide in Kubikmillimetern, T absolute Versuchtemperatur, α_{CO_2} *Bunsen*scher Absorptionskoeffizient für Kohlensäure bei T^0. $\alpha^{20^0}_{CO_2}$ wurde gleich 0,84 gesetzt).

Für die beschriebenen Versuchsbedingungen wird k_{CO_2} etwa gleich 2. Stieg also der Kohlensäuredruck um 1 mm Brodie, so waren etwa 2 cmm Gärungskohlensäure gebildet.

III. Die Wirkung der Blausäure auf den Lebedew-Saft

zeigt Abb. 2, in der die gebildete Gärungskohlensäure x als Funktion der Zeit t dargestellt ist. t ist von der Zeit des Zuckerzusatzes an gerechnet. Die Blausäure ist im Falle der Kurven II und III 60 Mi-

nuten *vor* dem Zucker, im Falle der Kurve IIIa 50 Minuten *nach* dem Zucker zugefügt worden. Die vier Kurven sind gleichzeitig aufgenommen, für je 1 ccm eines und desselben Saftes. $\frac{dx}{dt}$ ist die Gärgeschwindigkeit. Sie steigt mit der Zeit an, sowohl in dem blausäurefreien, als auch in dem blausäurehaltigen Saft. n/1000 Blausäure übt nur eine geringe

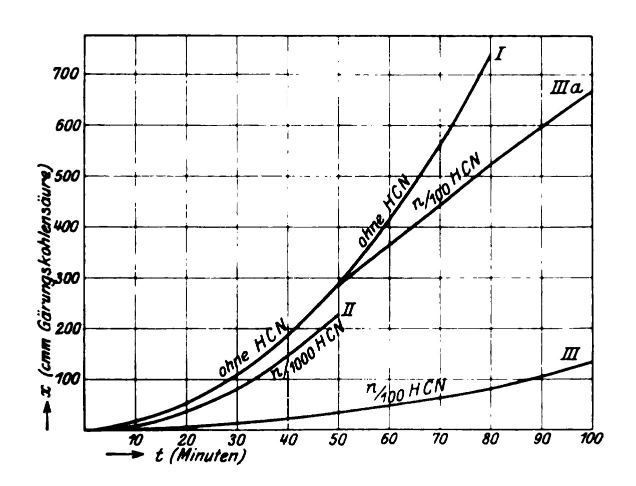


Abb. 2.
1 ccm *Lebedew*-Saft. 4 Proz. Glucose. Gasraum 5 Vol.-Proz. Kohlensäure in Stickstoff. Versuchstemperatur 20°.

gärungshemmende Wirkung aus, wie ein Vergleich der Kurven I und II lehrt. n/100 Blausäure hemmt, und zwar stärker, wenn sie einige Zeit vor der Glucose, als wenn sie einige Zeit nach der Glucose zugesetzt worden ist. Dies erkennt man, wenn man die Kurven III und III a mit der Kurve I vergleicht.

Die Gärgeschwindigkeit steigt längs der Kurven I und III in gleichem Verhältnis an. Beispielsweise steigt sie im Laufe von 70 Minuten auf der Kurve I von 1,7 auf 17,6, auf der Kurve III von 0,2 auf 2,0, in beiden Fällen also auf das 10fache. Deshalb ist es gleichgültig, welches Zeitelement man zur Berechnung der Gärungshemmung wählt. Während der ganzen Dauer des Versuches hemmt n/100 Blausäure die Gärgeschwindigkeit um rund 90 Proz.

Dieselbe Blausäurekonzentration hemmt, wenn man die Blausäure 50 Minuten nach der Glucose zusetzt, zunächst 40 Proz. und wird dann im Laufe der Zeit größer (IIIa).

In jedem Falle wird die Gärgeschwindigkeit durch n/100 Blausäure gehemmt, während, wie in der Einleitung erwähnt, eine narkotische Wirkung der Blausäure erst bei Konzentrationen von über 2,0 n zu erwarten ist. Blausäure wirkt also, wie wir jetzt sagen können, rund 200 mal stärker, als ihrer Adsorptionskonstante entspricht.

IV. Die Wirkung der Blausäure auf lebende Hefe.

Wäre die Wirkung der Blausäure eine narkotische, so müßte sie in *lebender* Hefe, wo die Fermente an die Struktur gebunden sind, nach den vorliegenden Erfahrungen [1]) größer sein, als in Hefe*saft*.

In Abb. 3 ist die Gärungskohlensäure, die lebende Hefe bei verschiedenen Blausäurekonzentrationen entwickelt, als Funktion der Zeit *t* dargestellt. *t* ist wieder von der Zeit des Zuckerzusatzes an gerechnet. Die Blausäure ist im Falle der Kurven II und III 60 Minuten *vor* dem Zucker, im Falle der Kurve III a 40 Minuten *nach* dem Zucker zugefügt worden.

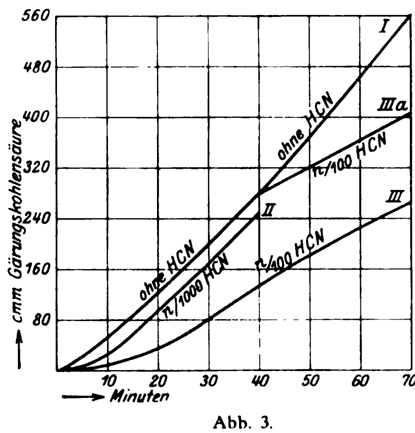


Abb. 3.
4 mg lebende Hefe (Trockengewicht) in 1 ccm 0,2 mol. KH_2PO_4. 4 Proz. Glucose. Gasraum Stickstoff. Versuchstemperatur 19°.

Das Bild der Kurven ist in wesentlichen Punkten dasselbe, wie für den *Lebedew*-Saft. n/1000 Blausäure übt, abgesehen von den ersten 10 Minuten, nur eine geringe gärungshemmende Wirkung aus. n/100 Blausäure, vor dem Zucker zugesetzt, hemmt die Gärgeschwindigkeit zunächst um 90 Proz. Die Hemmung nimmt dann mit der Zeit ab und beträgt im weiteren Verlauf rund 50 Proz. n/100 Blausäure, einige Zeit nach dem Zucker zugesetzt, hemmt die Gärgeschwindigkeit um 50 Proz.

Das Resultat ist, daß n/100 Blausäure in jedem Falle die Gärgeschwindigkeit in lebender Hefe stark hemmt, wobei die Hemmungen nie größer sind, als in Hefesaft. Auch dieses Resultat schließt aus, daß die beobachteten Blausäurewirkungen narkotische sind.

[1]) Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **81**, 99, 1912; Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **158**, 19, 1914.

V. Protokolle.

1. Adsorption der Blausäure an Blutkohle.

Die beobachteten *a*- und *c*-Werte sind [1]):

c Mole/Liter Lösung	*a* Mikromole/g Kohle
3,8 . 10^{-4}	10
70 . 10^{-4}	80
890 . 10^{-4}	550
8800 . 10^{-4}	2600

In Abb. 4 ist log *a* als Funktion von — log *c* dargestellt. Die erhaltene Kurve ist nahezu eine grade Linie, die *a*—*c*-Kurve also eine *Freundlich*sche Adsorptionsisotherme [2]).

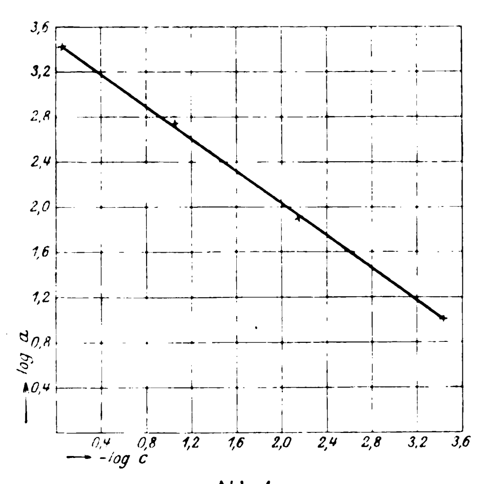


Abb. 4.
Adsorption der Blausäure an *Merck*scher Blutkohle. *c* = Konzentration der Blausäure in der Lösung in Mole/Liter. *a* = adsorbierte Blausäure in Mikromole/Gramm Kohle.

2. Protokoll zu Abb. 2.

Lebedew-Saft bei 20° in 5proz. CO_2-N_2.

Zeit Minuten	1 ccm Saft ohne HCN cmm CO_2	1 ccm Saft n/1000 HCN cmm CO_2	1 ccm Saft n/100 HCN cmm CO_2
	Selbstgärung vor Zugabe der Glucose.		
20'	16	11	3,9
40	26	22	7,8

[1]) Nach dieser Zeitschr. 119, 161, 1921.
[2]) *H. Freundlich*, Zeitschr. f. physik. Chem. 57, 385, 1906.

Zeit Minuten	1 ccm Saft ohne HCN cmm CO_2		1 ccm Saft n/1000 HCN cmm CO_2	1 ccm Saft n/100 HCN cmm CO_2
	Gärung nach Zugabe von 50 mg Glucose.			
10	17		10	2
20	51		36	6
30	106		80	14
40	182		142	20
50	285		230	33
	ohne HCN	n/100 HCN		
70	564	445	—	61
80	740	525	—	81
90	—	595	—	104
100	—	665	—	130
	Kurve I	Kurve IIIa	Kurve II	Kurve III

3. Protokoll zu Abb. 3.

Lebende Hefe in 0,2 mol. KH_2PO_4 bei 19°. Stickstoff.

Zeit Minuten	4 mg Hefe*) in 1 ccm Phosphatlösung			
	ohne HCN cmm CO_2	ohne HCN cmm CO_2	n/1000 HCN cmm CO_2	n/100 HCN cmm CO_2
5'	20	21	6	2
10	53	51	26	8
15	88	86	57	18
20	124	122	95	34
25	160	158	132	55
30	196	194	170	80
40	280	269**)	250	134
50	370	320	330	180
60	460	366	410	223
70	560	405	490	264
	Kurve I	Kurve IIIa	Kurve II	Kurve III

*) Trockengewicht.
**) Nach 40 Min. soviel HCN hinzugefügt, daß in bezug auf HCN n/100.

Über die Wirkung des Schwefelwasserstoffs auf chemische Vorgänge in Zellen.

Von

Erwin Negelein.

(Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie, Berlin-Dahlem).

(Eingegangen am 13. September 1925.)

(Mit 1 Abbildung im Text.)

I. Historisches über die Wirkung des Schwefelwasserstoffs.

In seinem Handbuche der Chemie[1]) zitiert *J. J. Berzelius* die folgenden Versuche von *Thénard*: „D'après *Thénard*, un oiseau, par exemple un pinson, meurt sur le champ dans l'air qui ne contient q'un quinze centième de son volume de sulfide hydrique; il ne faut q'un huit centième de volume de l'air de sulfide hydrique, pour faire périr un chien et un deux cent cinquantième pour tuer un cheval.“

Nach diesen Angaben können wir die Schwefelwasserstoffkonzentration im Blutplasma, die tödlich wirkt, angenähert berechnen.

In dem ersten von *Thénard* erwähnten Fall ist der Schwefelwasserstoff-Partialdruck bei normalem Atmosphärendruck

$$\frac{760}{1500} = 0{,}51 \text{ mm Hg}$$

und folglich die Schwefelwasserstoffkonzentration c im Blutplasma in Molen/Liter

$$c = \frac{0{,}51}{760} \cdot \alpha \cdot \frac{1000}{22400},$$

wo α den *Bunsen*schen Absorptionskoeffizienten des Schwefelwasserstoffs (für Plasma und Bluttemperatur) bedeutet.

Setzen wir $\alpha = 1{,}66$, so wird

$$c = 5 \cdot 10^{-5} \text{ Mole/Liter}.$$

Bei der Berechnung wird vorausgesetzt, daß in *Thénards* Versuchen das Plasma mit dem angewandten Schwefelwasserstoffdruck im Gleich-

---

[1]) *J. J. Berzelius*, Traité de Chimie 7, 108. Paris 1833.

gewicht war. Trifft diese Voraussetzung nicht zu, so ist die tödlich wirkende Schwefelwasserstoffkonzentration kleiner als $5 \cdot 10^{-5}$ Mole/Liter.

Später hat sich *C. F. Schönbein*[1]) mit der giftigen Wirkung des Schwefelwasserstoffs beschäftigt. Er fand, daß die wasserstoffperoxydspaltende Wirkung „organischer Materie" durch kleine Mengen Schwefelwasserstoff aufgehoben wird, und fügte die Bemerkung hinzu, daß damit immer der Verlust anderer Fermentwirkungen verbunden sei, beispielsweise der Verlust der Gärwirkung.

Was die Erklärung der Giftwirkung anbetrifft, so dachte man zeitweise an eine Reaktion mit dem Blutfarbstoff [Hoppe-Seylers Sulfhämoglobin[2])], wie man auch zeitweise versuchte, die Blausäurewirkung auf eine Reaktion mit dem Blutfarbstoff zurückzuführen [Hoppe-Seylers Cyanhämoglobin[2])].

Hierbei übersah man, daß Schwefelwasserstoff und Blausäure allgemeine Zellgifte sind, im Gegensatz zu dem Kohlenoxyd, das ein spezielles Blutgift ist und nur auf blutführende Organismen giftig wirkt. Falls die *Hoppe-Seyler*schen Reaktionen bei der Vergiftung höherer Tiere mit Blausäure oder Schwefelwasserstoff eine Rolle spielen, so sind sie Entgiftungsreaktionen, die die Giftkonzentrationen im Plasma vermindern.

II. Methodik.

Die Messung der in der Einleitung genannten Stoffwechselvorgänge geschah manometrisch. In keinem Falle durfte der Einsatz der Versuchsgefäße Kalilauge enthalten — wegen der Absorption des Schwefelwasserstoffes durch Laugen —, vielmehr waren die Methoden anzuwenden[3]), die auf der verschiedenen Löslichkeit der Kohlensäure und des Sauerstoffs beruhen. Die spezielle Anordnung war von Fall zu Fall verschieden und wird in den einzelnen Abschnitten beschrieben. Die Sperrflüssigkeit der Barcroftmanometer war *Brodie*sche Flüssigkeit, von der 10000 mm = 760 mm Hg. Alle Druckänderungen sind in Millimetern *Brodie*scher Flüssigkeit gemessen und angegeben.

Einer Erläuterung bedarf das Verfahren, nach dem bestimmte Konzentrationen an Schwefelwasserstoff in den Versuchsflüssigkeiten hergestellt wurden. Die Versuchsflüssigkeiten waren saure Phosphat-(KH_2PO_4) Lösungen oder — wenn die Nitratassimilation gemessen wurde — salpetersaure Lösungen. Sie wurden in die Versuchsgefäße (Abb. 1) eingefüllt und mit Gasmischungen, die bei den verschiedenen

1) *C. F. Schönbein*, Journ. prakt. Chem. (1) 89, 323, 1863.
2) *Hoppe-Seyler*, Med. Chem. Unters. Berlin 1866 bis 1871.
3) Diese Zeitschr. 152, 51, 1924.

Versuchen verschieden waren, gesättigt. War dies geschehen, so wurde die gewünschte Schwefelwasserstoffkonzentration durch Zugabe von Natriumsulfid (Na_2S) erzeugt, dessen Menge immer klein war gegen die Menge an KH_2PO_4 oder HNO_3, so daß sich das zugefügte Natriumsulfid praktisch vollständig in freien Schwefelwasserstoff und Nitrat oder Phosphat umsetzte.

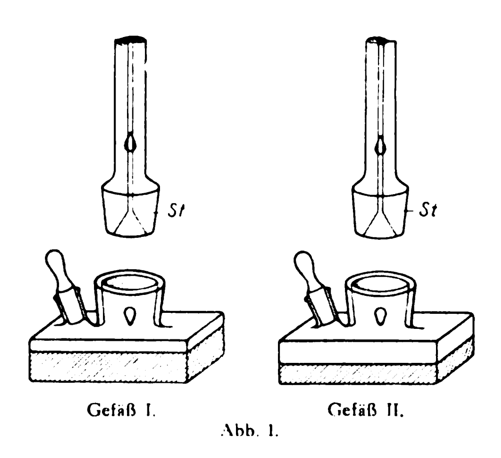


Abb. 1.

Da die Versuchsflüssigkeit mit einem Gasraum in Verbindung stand, so entwich Schwefelwasserstoff in den Gasraum. Da der Gasraum abgeschlossen war, so stellte sich ein Gleichgewicht ein, und zwar war im Gleichgewicht das Verhältnis

$$\frac{H_2S \text{ im Gasraum} + H_2S \text{ gelöst}}{H_2S \text{ gelöst}} = \frac{v_G \frac{273}{T} + v_F \alpha}{v_F \alpha} \quad (1)$$

wo v_G und v_F die Volumina des Gas- und Flüssigkeitsraums sind, T die (abs.) Temperatur und α der *Bunsen*sche Absorptionskoeffizient für Schwefelwasserstoff (für die Versuchsflüssigkeit und die Versuchstemperatur). α^{20^0} setzte ich gleich 2,55.

Aus (1) ergibt sich die Zahl n der Mole Na_2S, die wir in das Versuchsgefäß hineinbringen müssen, um in der Lösung die H_2S-Konzentration von c Molen/Liter zu erzeugen. Es ist

$$n = c \cdot 10^{-3} \cdot v_F \frac{v_G \frac{273}{T} + v_F \alpha}{v_F \alpha}$$

$$n = c \cdot 10^{-3} \cdot \frac{v_G \frac{273}{T} + v_F \alpha}{\alpha}. \quad (2)$$

III. Die Wirkung von Schwefelwasserstoff auf die Atmung und Gärung in Hefezellen.

Zur Messung des Stoffwechsels der Hefe dienten Gefäße von der Form der Abb. 1, und zwar zwei Gefäße zur Messung des Stoffwechsels unter aeroben Bedingungen und ein Gefäß zur Messung des Stoffwechsels unter anaeroben Bedingungen.

Was den ersten Fall anbetrifft, so kann man entweder mit gleichen Zell*mengen* oder mit gleichen Zell*konzentrationen* arbeiten. Ich habe im allgemeinen mit gleichen Zellmengen gearbeitet.

Betrugen die Druckänderungen, die unter aeroben Bedingungen gleiche Zellmengen in gleichen Zeiten hervorbrachten, H mm (Gefäß I mit den Konstanten K_{O_2} und K_{CO_2}) und h mm, (Gefäß II mit den Konstanten k_{O_2} und k_{CO_2}), so war der verbrauchte Sauerstoff x_{O_2} in Kubikmillimetern

$$x_{O_2} = \frac{h\,k_{CO_2} - H\,K_{CO_2}}{\frac{k_{CO_2}}{k_{O_2}} - \frac{K_{CO_2}}{K_{O_2}}} \tag{3}$$

und die gebildete Kohlensäure x_{CO_2} in Kubikmillimetern

$$x_{CO_2} = \frac{h\,k_{O_2} - H\,K_{O_2}}{\frac{k_{O_2}}{k_{CO_2}} - \frac{K_{O_2}}{K_{CO_2}}}, \tag{4}$$

x_{CO_2} war die Summe von Atmungskohlensäure und Gärungskohlensäure. Nahm man an, daß ebensoviel Atmungskohlensäure gebildet, als Sauerstoff verbraucht wurde, so war die aerob gebildete Gärungskohlensäure x_G in Kubikmillimetern

$$x_G = x_{CO_2} + x_{O_2}.$$

Betrug die Druckänderung, die unter anaeroben Bedingungen beobachtet wurde, h_{CO_2} mm, so war die gebildete Kohlensäure in Kubikmillimetern

$$x_{CO_2} = h_{CO_2}\,k_{CO_2}. \tag{5}$$

In diesem Falle war x_{CO_2} gleich der gebildeten Gärungskohlensäure x_G.

Tabelle I enthält 2 Versuchsbeispiele. In Versuch 1 ist der aerobe und der anaerobe Stoffwechsel ohne Schwefelwasserstoff gemessen worden, in Versuch 2 der aerobe Stoffwechsel bei einer Schwefelwasserstoffkonzentration von 10^{-4} Molen/Liter, der anaerobe Stoffwechsel wieder ohne Schwefelwasserstoff. Das Ergebnis ist, daß 10^{-4} molar Schwefelwasserstoff die Atmung gärender Hefe vollkommen hemmt, und daß gleichzeitig die Gärung von dem aeroben auf den anaeroben Wert steigt. 10^{-4} molar Schwefelwasserstoff — in Sauerstoff — stellt

Tabelle 1.

Wirkung von Schwefelwasserstoff auf Hefe unter aeroben Bedingungen.

Obergärige Hefe[1]) in 0,5 molarer KH_2PO_4-Lösung. 1 Proz. Glucose. 20°. In jedem Gefäß 1,4 mg Hefe (Trockengewicht).

Nr.	Gasraum	H_2S-Konzentration	Gefäßvolumina		Gefäßkonstanten		Beobachtete Druckänderungen	Sauerstoffverbrauch (x_{O_2})	Gesamtkohlensäure (x_{CO_2})	Gärungskohlensäure (x_G)	
			v_F	v_G	für O_2	für CO_2					
		Mole/Liter	ccm	ccm			mm	cmm	cmm	cmm	
1	Luft	—	3,0	9,28	k_{O_2} 0,87	k_{CO_2} = 1,12	h = + 32 in 60′	— 50	+ 100	+ 50 (aerob)	
			8,0	5,64	K_{O_2} = 0,55	K_{CO_2} = 1,22	H = — 9 in 60′				
	Stickstoff	—	3,0	10,5	—	k_{CO_2} = 1,24	h_{CO_2} = + 146 in 60′	—	+ 182	+ 182 (anaerob)	
2	Luft	10−4	3,0	9,28	k_{O_2} = 0,87	k_{CO_2} = 1,12	h = + 145 in 45′	0	+ 174	+ 174 (aerob)	Hemmung der Atmung 100 Proz.
			8,0	5,64	K_{O_2} = 0,55	K_{CO_2} = 1,22	H = + 152 in 45′				Keine Hemmung der Gärung, sondern Anstieg d. Gärung auf d. anaeroben Wert
	Stickstoff	—	3,0	10,5	—	k_{CO_2} = 1,24	h_{CO_2} = + 132 in 45′	—	+ 164	+ 164 (anaerob)	

[1]) Rasse M des Berliner Instituts für Gärungsgewerbe.

also die Bedingungen der Anaerobiose her und wirkt offenbar auf die Gärung nur insofern, als er die Atmung hemmt.

Mit der gleichen Versuchsanordnung fand ich, daß noch 10^{-5} n Schwefelwasserstoff die Hefeatmung vollkommen hemmt, während 10^{-6} n Schwefelwasserstoff ohne deutliche Wirkung ist.

Tabelle II.

Wirkung von Schwefelwasserstoff auf Hefe unter anaeroben Bedingungen. Obergärige Hefe (Rasse M) in 0,5 molarer KH_2PO_4-Lösung. 1 Proz. Glucose. 20°. In jedem Gefäß 4 mg Hefe (Trockengewicht).

Gasraum	H_2S-Konzentration	Gefäßvolumina		Gefäßkonstante für Kohlensäure k_{CO_2}	Beobachtete Druckänderungen	Gärungskohlensäure (x_G)	Hemmung der Gärung
		v_F	v_G				
	Mole/Liter	ccm	ccm		mm	cmm	Proz.
Stickstoff	—	10	18,8	2,52	$h_{CO_2} = +112$ in 45′	282	—
Stickstoff	$5{,}4 \cdot 10^{-4}$	10	23,7	2,95	$h_{CO_2} = +95$ in 45′	281	0
Stickstoff	$5{,}8 \cdot 10^{-3}$	10	20,0	2,62	$h_{CO_2} = +21{,}5$ in 45′	57	80

Wegen des Einflusses der Atmung auf die Gärung kann die direkte Wirkung des Schwefelwasserstoffs auf die Gärung nur durch Versuche unter anaeroben Bedingungen ermittelt werden. Stellt man solche Versuche unter Zusatz von Schwefelwasserstoff an, so zeigt sich, daß 10^{-4} molar Schwefelwasserstoff auf die Gärung nicht wirkt. Noch die 5fache Konzentration an Schwefelwasserstoff ist ohne Einfluß auf die Gärung, und erst bei 60facher Konzentration finden wir eine starke Wirkung auf die Gärung (Tabelle II). Infolge dieser großen Spanne zwischen atmungs- und gärungshemmender Konzentration (10^{-5} n gegenüber $6 \cdot 10^{-3}$ n) ist es möglich, mit Hilfe von Schwefelwasserstoff die Atmung der Hefe von ihrer Gärwirkung vollkommen zu trennen.

III a. Die Wirkung von Blausäure auf die Atmung in Hefezellen.

An dieser Stelle seien Versuche über die Wirkung der Blausäure auf die Atmung gärender Hefe eingeschaltet, der einzige von den fünf untersuchten Stoffwechselvorgängen, für den der Blausäurehemmungswert durch frühere Arbeiten noch nicht hinreichend genau festgelegt ist.

Die Versuche wurden mit demselben Hefestamm, wie die Schwefelwasserstoffversuche ausgeführt, und auch im übrigen geschah alles, wie in Abschnitt III für aerobe Bedingungen beschrieben, mit dem einzigen Unterschied, daß der Schwefelwasserstoff durch Blausäure ersetzt wurde.

Das Ergebnis der Messungen war:

HCN-Konzentration Mole/Liter	x_{O_2} in 30 Min. (1,4 mg Hefe) cmm	Hemmung der Atmung Proz.
0	— 28,0	
$1 \cdot 10^{-5}$	— 8,7	70
$1 \cdot 10^{-4}$	0	100

IV. Die Wirkung von Schwefelwasserstoff auf die Kohlensäureassimilation in Chlorella

wurde bei intensiver Bestrahlung einer dünnen Algensuspension und bei Überschuß von Kohlensäure untersucht, das heißt unter Bedingungen, unter denen die *Blackman*sche Reaktion[1]) die Geschwindigkeit der Assimilation bestimmt. Zur Messung dienten Gefäße nach Abb. 1. Die Lichtquelle war eine $^1/_2$-Watt-Metallfadenlampe von 75 Watt Stromverbrauch, deren leuchtender Faden 8 cm vom Boden der Versuchsgefäße entfernt war.

Beträgt die Druckänderung bei Bestrahlung H mm, so ist die allgemeine Formel zur Berechnung des entwickelten Sauerstoffs[2]) x_{O_2} in Kubikmillimetern

$$x_{O_2} = H \frac{K_{CO_2} \cdot K_{O_2}}{K_{CO_2} + \gamma K_{O_2}}, \tag{6}$$

wo $\gamma = \frac{x_{CO_2}}{x_{O_2}}$ ist. Ist γ unbekannt, so genügt *ein* Gefäß nicht zur Messung der Assimilation. Für unseren besonderen Fall jedoch — Chlorella bei intensiver Bestrahlung — lagen Bestimmungen von γ vor[3]), so daß wir mit *einem* Gefäß auskamen. γ ist sehr nahe gleich — 0,9, der entwickelte Sauerstoff in Kubikmillimetern also

$$x_{O_2} = H \frac{K_{CO_2} \cdot K_{O_2}}{K_{CO_2} - 0{,}9\, K_{O_2}}.$$

Tabelle III enthält ein Versuchsbeispiel für die Schwefelwasserstoffkonzentrationen 0, 10^{-6}, 10^{-5} und 10^{-4} Mole/Liter. Das Ergebnis ist, daß 10^{-5} molar Schwefelwasserstoff die Kohlensäureassimilation — genauer die *Blackman*sche Reaktion — stark hemmt.

---

[1]) Vgl. diese Zeitschr. **146**, 486, 1924.

[2]) Die Atmung der Chlorella beträgt bei intensiver Bestrahlung nur einige Prozente der Assimilation und kann vernachlässigt werden.

[3]) Zeitschr. f. physik. Chem. **102**, 254, 1922.

Tabelle III.
Wirkung von Schwefelwasserstoff auf die Kohlensäureassimilation in Chlorella.
Chlorella in *Knop*scher Lösung[1]) bei 20°. In jedem Gefäß 2 mg Chlorella (Trockengewicht).

Gasraum	H_2S-Konzentration Mole/Liter	Gefäßvolumina v_F ccm	v_G ccm	Gefäßkonstanten K_{O_2}	K_{CO_2}	Beobachtete Druckänderungen mm	Entwickelter Sauerstoff (x_{O_2}) cmm	Hemmung Proz.
5 Proz. CO_2 in Luft	0	8,0	5,54	0,54	1,21	+ 136 in 20′	124	—
	10−6	8,0	5,54	0,54	1,21	+ 120 „ 20	109	12
	10−5	8,0	5,54	0,54	1,21	+ 38,5 „ 20	35	72
	10−4	8,0	5,64	0,55	1,22	— 6,0 „ 20	—	100

V. Die Wirkung von Schwefelwasserstoff auf die Nitratassimilation in Chlorella.

Nach einer früheren Arbeit ist die Gleichung der Nitratassimilation[2])

$$HNO_3 + H_2O + 2\,C = NH_3 + 2\,CO_2 \tag{7}$$

ein Vorgang, der unter geeigneten Versuchsbedingungen so schnell verläuft, daß die nach Gleichung (7) entwickelte „Extrakohlensäure“ einen erheblichen Teil der gesamten entwickelten Kohlensäure ausmacht. Unter solchen Bedingungen kann man die Nitratassimilation durch Bestimmung der Extrakohlensäure messen.

Zur Messung dienten zwei Gefäße nach Abb. 1. Die Suspensionsflüssigkeit war eine Lösung, die in bezug auf $NaNO_3$ n/10, in bezug auf freie Salpetersäure n/100 war, das sogenannte „Nitratgemisch“. Im Gasraum befand sich Luft, die Versuchsgefäße waren verdunkelt.

Betrugen die Druckänderungen, die gleiche Zellmengen in gleichen Zeiten hervorbrachten, H mm (Gefäß I mit den Konstanten K_{O_2} und K_{CO_2}) und h mm (Gefäß II mit den Konstanten k_{O_2} und k_{CO_2}), so war der verbrauchte Sauerstoff x_{O_2} in Kubikmillimetern

$$x_{O_2} = \frac{h\,k_{CO_2} - H\,K_{CO_2}}{\frac{k_{CO_2}}{k_{O_2}} - \frac{K_{CO_2}}{K_{O_2}}},$$

die gebildete Kohlensäure x_{CO_2} — die Summe von Atmungskohlensäure und Extrakohlensäure — in Kubikmillimetern

$$x_{CO_2} = \frac{h\,k_{O_2} - H\,K_{O_2}}{\frac{k_{O_2}}{k_{CO_2}} - \frac{K_{O_2}}{K_{CO_2}}}$$

und die gebildete Extrakohlensäure in Kubikmillimetern

$$x_{CO_2} + x_{O_2},$$

[1]) Zusammensetzung der *Knop*schen Lösung vgl. Zeitschr. f. physik. Chemie **102**, 235, 1922.
[2]) Diese Zeitschr. **110**, 66, 1920.

da nach früheren Gasanalysen[1]) fast genau soviel Atmungskohlensäure gebildet, als Sauerstoff verbraucht wird.

Tabelle IV enthält ein Versuchsbeispiel. Die Schwefelwasserstoffkonzentrationen waren 0 und 10^{-4} Mole/Liter. Das Ergebnis ist, daß 10^{-4} molar Schwefelwasserstoff die Extrakohlensäurebildung zum Verschwinden bringt, die Nitratassimilation also vollständig hemmt.

Tabelle IV.

Wirkung von Schwefelwasserstoff auf die Nitratassimilation in Chlorella. Chlorella in Nitratgemisch bei 25°. Dunkel. In jedem Gefäß 16 mg Chlorella (Trockengewicht).

Gasraum	H_2S-Konzentration	Gefäßvolumina		Gefäßkonstanten		Beobachtete Druckänderungen	Sauerstoffverbrauch (x_{O_2})	Kohlensäurebildung (x_{CO_2})	Extrakohlensäure	Hemmung der Nitratassimilation
		v_F	v_G	für O_2	für CO_2					
	Mole/Liter	ccm	ccm			mm	cmm	cmm	cmm	Proz.
Luft	0	3,0	9,95	$k_{O_2} = 0,92$	$k_{CO_2} = 1,14$	$h = +3,5$ in 15′	−25	+35	10	100
		8,0	5,54	$K_{O_2} = 0,53$	$K_{CO_2} = 1,12$	$H = -16$ in 15′				
Luft	10^{-4}	3,0	10,51	$k_{O_2} = 0,97$	$k_{CO_2} = 1,19$	$h = -5,5$ in 15′	−26	+25,5	0	
		8,0	5,64	$K_{O_2} = 0,54$	$K_{CO_2} = 1,12$	$H = -25$ in 15′				

VI. Die Wirkung von Schwefelwasserstoff auf die Atmung in Chlorella.

Zur Messung der Atmung bei Gegenwart von Schwefelwasserstoff dienten zwei Gefäße nach Abb. 1. Betrugen die Druckänderungen, die gleiche Zellmengen in gleichen Zeiten hervorbrachten, H mm (Gefäß I mit den Konstanten K_{O_2} und K_{CO_2}) und h mm (Gefäß II mit den Konstanten k_{O_2} und k_{CO_2}) so war der verbrauchte Sauerstoff x_{O_2} in Kubikmillimetern

$$x_{O_2} = \frac{h k_{CO_2} - H K_{CO_2}}{\frac{k_{CO_2}}{k_{O_2}} - \frac{K_{CO_2}}{K_{O_2}}}$$

und die gebildete Atmungskohlensäure x_{CO_2} in Kubikmillimetern

$$x_{CO_2} = \frac{h k_{O_2} - H K_{O_2}}{\frac{k_{O_2}}{k_{CO_2}} - \frac{K_{O_2}}{K_{CO_2}}}.$$

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **102**, 254, 1922.

Zur Messung der Atmung bei Abwesenheit von Schwefelwasserstoff begnügte ich mich mit *einem* Gefäß, setzte den respiratorischen Quotienten nach früheren Messungen[1]) gleich — 1 und berechnete den Sauerstoffverbrauch x_{O_2} in Kubikmillimetern aus der beobachteten Druckänderung H nach der Gleichung

$$x_{O_2} = H \frac{K_{CO_2} \cdot K_{O_2}}{K_{CO_2} - K_{O_2}} .$$

Tabelle V enthält ein Versuchsbeispiel. Die Schwefelwasserstoffkonzentrationen waren 0 und 10^{-4} Mole/Liter. Das Ergebnis ist, daß 10^{-4} molar Schwefelwasserstoff die Atmung nicht nur nicht hemmt, sondern sogar beschleunigt, und daß der respiratorische Quotient der gesteigerten Atmung gleich dem der normalen Atmung ist.

Tabelle V.

Wirkung von Schwefelwasserstoff auf die Atmung in Chlorella. Chlorella in *Knop*scher Lösung[2]) bei 20°. Dunkel. In jedem Gefäß 12 mg Chlorella (Trockengewicht).

Gasraum	H_2S-Konzentration Mole/Liter	Gefäßvolumina v_F ccm	Gefäßvolumina v_G ccm	Gefäßkonstanten für O_2	Gefäßkonstanten für CO_2	Beobachtete Druckänderungen mm	Verbrauchter Sauerstoff (x_{O_2}) cmm	Gebildete Kohlensäure (x_{CO_2}) cmm	
Luft	0	8,0	5,54	$K_{O_2} = 0{,}54$	$K_{CO_2} = 1{,}21$	$h = -18$ in 15′	— 18	+ 18	Keine Hemmung der Atmung, sondern Steigerung auf das 1,8fache
Luft	10^{-4}	3,0	9,28	$k_{O_2} = 0{,}87$	$k_{CO_2} = 1{,}12$	$h = -8$ in 15′	— 32	+ 32	
		8,0	5,64	$K_{O_2} = 0{,}55$	$K_{CO_2} = 1{,}22$	$H = -31{,}5$ in 15′			

VII. Vergleich der Blausäure- und Schwefelwasserstoffwirkung.

Zum Schluß vergleichen wir die Wirkungen, die Blausäure und Schwefelwasserstoff bei gleicher Konzentration hervorbringen, und wählen als Vergleichskonzentration 10^{-4} Mole/Liter. Es ergibt sich folgendes:

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **102**, 254, 1922.

[2]) Zusammensetzung der *Knop*schen Lösung vgl. Zeitschr. f. physik. Chem. **102**, 235, 1922.

	Es bewirkt 10^{-4} mol. H_2S	Es bewirkt 10^{-4} mol. HCN
Atmung in Hefezellen . . .	Vollkommene Hemmung	Vollkommene Hemmung
Gärung in Hefezellen	Keine Hemmung	Keine Hemmung[1]
Kohlensäureassimilation in Chlorella	Vollkommene Hemmung	Starke Hemmung[2]
Nitratassimilation in Chlorella	Vollkommene Hemmung	Vollkommene Hemmung[3]
Atmung in Chlorella	Steigerung	Steigerung[4]

Das Ergebnis ist, daß ein weitgehender Parallelismus zwischen den Wirkungen der Blausäure und des Schwefelwasserstoffs besteht. Die Atmung der Chlorella wird — als bisher einziger Fall von Atmung — durch kleine Blausäurekonzentrationen nicht nur nicht gehemmt, sondern sogar beschleunigt, und die gleiche Wirkung bringt in diesem Falle Schwefelwasserstoff hervor, der in anderen Fällen wie Blausäure die Atmung hemmt. Die alkoholische Gärung ist, wie alle Gärungen, gegen Blausäure erheblich unempfindlicher als die Atmung und ist es auch gegenüber Schwefelwasserstoff. Hierbei ist sogar das Verhältnis zwischen atmungs- und gärungshemmender Konzentration von derselben Größenordnung, denn wir finden

	Es hemmen die Hefeatmung Mole/Liter	Es hemmen die Hefegärung Mole/Liter	Verhältnis
Blausäure	10^{-5}	10^{-2}	1 : 1000
Schwefelwasserstoff	10^{-5}	$0,6 . 10^{-2}$	1 : 600

Für die Anregung zu dieser Arbeit spreche ich Herrn *O. Warburg* meinen Dank aus.

[1]) Diese Zeitschr., die vorhergehende Arbeit.
[2]) Ebendaselbst **146**, 488, 1924.
[3]) Ebendaselbst **110**, 81, 1920.
[4]) Ebendaselbst **100**, 267, 1919.

Über das Membrangleichgewicht und den kolloidosmotischen Druck des Serums.

Von

Gerhard Hecht.

(Aus der medizinischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Altona.)

(Eingegangen am 4. September 1925.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

I.

Krogh[1]) führt in seinem Buche über die Anatomie und Physiologie der Kapillaren des näheren aus, daß man den kolloidosmotischen Druck des Blutes als eine Größe ansehen muß, die für den Wasserwechsel der Gewebe von ausschlaggebender Bedeutung ist; *Krogh* sowie *Schade* und *Claussen*[2]) haben gezeigt, daß bei der markantesten Störung des Flüssigkeitswechsels, dem Ödem, tatsächlich eine Verminderung des kolloidosmotischen Druckes zur Beobachtung kommen kann. Nach *Schade* und *Claussen* unterscheiden sich Ödeme verschiedener Pathogenese dadurch, daß bei Kreislaufödemen keine Verminderung vorhanden ist, während sie bei Nierenödemen mit starker Störung im Bluteiweißbild mit großer Regelmäßigkeit gefunden wurde. Als ich mich von klinischen Gesichtspunkten aus mit Messungen des kolloidosmotischen Druckes menschlicher Sera beschäftigte, erschien mir eine Aufklärung der physikalisch-chemischen Bedeutung dieser Größe wünschenswert, um so mehr, als die theoretischen Kenntnisse über diese „wasserbindende Kraft" zu der steigenden physiologischen und pathologischen Bedeutung derselben in unbefriedigendem Mißverhältnis zu stehen scheinen. Die nähere Anregung dazu gaben mir die Arbeiten von *J. Loeb*, die in seinem letzten Buche über die Eiweißkörper[3]) zusammengefaßt sind, und deren wesentlicher Inhalt darin besteht, daß die *Donnan*sche Theorie der Membrangleichgewichte, wie auf eine Reihe anderer Eigenschaften, so insbesondere auf den osmotischen Druck von Proteinsolen angewendet wird.

---

[1]) Berlin 1924.
[2]) Zeitschr. f. klin. Med. **100**, 363, 1924.
[3]) Berlin 1924.

Donnan[1]) wies bereits bei der Ableitung dieser Theorie darauf hin, daß sie für die Biologie von Bedeutung sei, da in den meisten biologischen Objekten die Voraussetzung für die Entwicklung eines Membrangleichgewichts gegeben sei. Der erste Schritt in dieser Richtung mußte in der Anwendung der Theorie auf eiweißartige Substanzen bestehen; dies ist in den Arbeiten *Procters*[2]) zuerst geschehen, der die Quellung von Gelatinegelen erfolgreich in Beziehung zum Donnangleichgewicht brachte. In der von *Procter* eingeschlagenen Richtung ist *J. Loeb* in den genannten Arbeiten weitergegangen, indem er zum Studium von Gelatine- und anderen Proteinsolen überging. Das osmotische Verhalten solcher, denen Säuren, Laugen oder Salze zugesetzt worden waren, fand er in quantitativ außerordentlich guter Übereinstimmung mit den Konsequenzen, die die Theorie des Membrangleichgewichts hierfür ergibt.

Die eigenartigen Verteilungsverhältnisse der Ionen, die bei der Dialyse von tierischem Serum auftreten, sind aus den Arbeiten *Ronas*[3]) schon lange bekannt. Zu ihrer Erklärung ist in neuerer Zeit durch *Rona* und *Petow*[4]) und durch *Atchley*, *Loeb* und *Benedict*[5]) auch ein Membrangleichgewicht im Sinne *Donnans* angenommen worden. Wenn somit das Vorhandensein eines Membrangleichgewichts von meßbarer Größe bei der Dialyse von Serum mindestens wahrscheinlich war, andererseits aber die Beziehungen zwischen kolloidosmotischem Druck und Membrangleichgewicht, wie sie aus den *Donnan*schen Formeln hervorgehen, von *Loeb* und *Procter* mit Erfolg auf Eiweißkolloide angewendet wurden, so mußte es auch möglich sein, den kolloidosmotischen Druck des Serums unter dem Gesichtspunkte des Donnangleichgewichts zu analysieren. Darin soll die Aufgabe der vorliegenden Arbeit bestehen.

Es sei gestattet, zunächst eine kurze Beschreibung des Donnangleichgewichts in einer möglichst allgemeinen, aber leicht auf das Serum anwendbaren Form zu geben, um daraus die hier notwendigen mathematischen Größen abzuleiten.

Ein solches Gleichgewicht tritt bekanntlich dann auf, wenn zwei Elektrolytlösungen durch eine Membran getrennt sind, die für ein nur in der einen Lösung vorhandenes Ion undurchlässig, für alle anderen Ionen durchlässig ist. Es wird also bei der Einstellung des Verteilungsgleichgewichts das Salz, dem das nicht diffundierende Ion angehört, auf einer Seite der Membran zurückbleiben, und das diffundierbare Salz verteilt sich nun auch nicht gleichmäßig, wie man erwarten könnte, sondern wird zum Teil auf die andere Seite „verdrängt". *Donnan* hat hierfür aus thermodynamischen Überlegungen die Gleichgewichtsbedingung abgeleitet; sie besteht darin, daß keine Änderungen der Konzentrationen mehr eintreten, wenn die Produkte aus den diffusiblen Ionen zu beiden Seiten der Membran gleich sind. Es sei in einem

[1]) Zeitschr. f. Elektrochem. **17**, 572, 1911.
[2]) Journ. of the Chem. Soc. **105**, 313, 1914; **109**, 307, 1916.
[3]) Diese Zeitschr. **29**, 501, 1910; **48**, 278, 1913.
[4]) Ebendaselbst **137**, 356, 1923.
[5]) Proc. of the soc. f. exper. Biol. and Med. **20**, 238, 1923.

Beispiel ein indiffusibles negatives Ion vorhanden, das, wie es ja bei Eiweißkörpern der Fall ist, viele Ladungen trägt. Bezeichnet man die für den osmotischen Druck in Frage kommende Konzentration der Teilchen mit $\mathfrak{N}$, die Zahl der Ladungen des einzelnen Ions mit n, dann ist die Äquivalenzkonzentration $n . \mathfrak{N}$. Die diffusiblen Ionen seien einwertig, das diffusible Anion habe nach Einstellung des Gleichgewichts auf der Seite des indiffusiblen (innen) die Konzentration A^-, auf der anderen Seite (außen) a^-; das Kation entsprechend K^+ und k^+. Das System kann durch das Schema

$$\frac{A^-}{n . \mathfrak{N}}; K^+ \,|\, a^-; k^+$$

dargestellt werden. Die Gleichgewichtsbedingung ist dann also

$$A^- . K^+ = a^- . k^+.$$

Die osmotischen Drucke der beiden Lösungen sind nun $R, T(\mathfrak{N} + A^- + K^+)$ und $RT(a^- + k^+)$, die Druckdifferenz, die, im Falle eines kolloiden indiffusiblen Ions, als der kolloidosmotische Druck zu bezeichnen ist, ist $RT[\mathfrak{N} + A^- + K^+ - (a^- + k^+)]$. Da a^- und k^+ untereinander gleich sind und sich infolgedessen aus der Gleichgewichtsgleichung ableiten läßt, daß $a^- = \sqrt{A^- . K^+}$ ist, so läßt sich dieser Ausdruck umformen in $RT\left(\mathfrak{N} + A^- + K^+ - 2\sqrt{A^- . K^+}\right)$.

Dies besagt über das Verhalten der Druckdifferenz bei verschiedenen Konzentrationen an diffusiblem Salz folgendes: Ist kein solches vorhanden, also A^-, a^- und $k^+ = 0$, so ist K^+ äquivalent den Ladungen des indiffusiblen Ions, also $n . \mathfrak{N}$; der Druck wird $RT(\mathfrak{N} + K^+)$, verhält sich also so, als sei die Membran für beide Ionen undurchlässig. Ist dagegen Salz vorhanden, so wird der Druck kleiner, und zwar kann er maximal zu $\mathfrak{N}$, dem Druck der indiffusiblen Ionen allein, herabgedrückt werden, nämlich dann, wenn so viel Salz da ist, daß ihm gegenüber $n . \mathfrak{N}$ praktisch gleich 0 wird, und also $A^- = K^+$ ist. Denn dann wird der Ausdruck $A^- + K^+ - 2\sqrt{A^- . K^+} = 0$.

Man hat deswegen von einer Herabsetzung des „wahren" osmotischen Druckes durch Salze gesprochen. Für Eiweißkörper ist die Betrachtung vom umgekehrten Standpunkt fruchtbarer, wie sie *Procter* und *J. Loeb* angewendet haben. Denn hier bedeutet $\mathfrak{N}$ den der Konzentration der Eiweißteilchen allein entsprechenden Druck; zu ihm kommt die durch den Salzgehalt und den Ionisationszustand der Eiweißteilchen bestimmte Größe $A^- + K^+ - 2\sqrt{A^- . K^+}$, die *J. Loeb* in einer etwas abweichenden Formulierung daher treffend als die „Donnankorrektur" des kolloidosmotischen Druckes bezeichnet. Das wesentliche Ergebnis der *Loeb*schen Untersuchungen hinsichtlich des kolloidosmotischen Druckes besteht nun darin, daß sich die starken Ver-

änderungen desselben, die bei Säure-, Alkali- oder Salzzusatz zu Gelatinesolen auftreten, allein durch die Veränderungen der Donnankorrektur erklären, die er aus der Ionenverteilung berechnet, während die Zahl der Eiweißteilchen unter diesen Verhältnissen nahezu konstant zu bleiben scheint. Dementsprechend war jetzt die hier gestellte Aufgabe darin zu sehen, die Anteile der Teilchenkonzentration und der Donnankorrektur am kolloidosmotischen Druck des Serums zu bestimmen.

Beim Serum sind die Verhältnisse gegenüber dem oben gegebenen einfachen Beispiel noch dadurch kompliziert, daß an diffusiblen Ionen nicht nur von jedem Ladungssinn eine Art vorhanden ist, sondern mehrere, und zwar nicht nur ein-, sondern auch mehrwertige. Vernachlässigt man zunächst die mehrwertigen, was bei ihrer geringen Menge ohne merklichen Fehler erlaubt sein dürfte, so ist für je zwei beliebige, entgegengesetzt geladene Ionen die Gleichgewichtsbedingung, daß die Produkte ihrer Konzentrationen im Serum und im Dialysat gleich sind. Es seien die betreffenden Konzentrationen im Serum A_1, A_2, $A_3 \ldots$, K_1, K_2, $K_3 \ldots$, im Dialysat a_1, a_2, $a_3 \ldots$, k_1, k_2, $k_3 \ldots$, bildet man aus diesen sämtliche Gleichungen von der Form $A_1 . K_1 = a_1 . k_1$; $A_1 . K_2 = a_1 . k_2$ usw., so führt deren Addition zu dem einfachen Ausdruck $(A_1 + A_2 + A_3 \ldots)(K_1 + K_2 + K_3 \ldots) = (a_1 + a_2 + a_3 \ldots)(k_1 + k_2 + k_3 \ldots)$, d. h. für die Gegenwart beliebig vieler einwertiger Ionen ist die Gleichgewichtsbedingung die, daß die Produkte aus den Summen aller Ionen derselben Ladung zu beiden Seiten der Membran gleich sind. Es folgt daraus, daß man die in dem oben genannten Beispiel abgeleiteten Ausdrücke ohne weiteres auf das Serum anwenden kann, wenn man unter A^- und a^- die Summen der Konzentrationen der Anionen, unter K^+ und k^+ die der Kationen verstehen will.

In den Ausdruck der Donnankorrektur $A^- + K^+ - 2\sqrt{A^+ . K^+}$ gehen nur Größen ein, die durch genaue Analysen des Serums allein prinzipiell bestimmbar sind, ohne daß überhaupt ein Dialyseversuch nötig wäre. *Kramer* und *Tisdall*[1]) geben an, daß das Serum im Mittel 0,1585 Äquivalente Kationen und 0,1327 Anionen enthält. Diese Werte sind nicht ohne weiteres für A^- und K^+ einzusetzen, da ja die chemischen Analysen nicht nur die Konzentrationen der Ionen, sondern die Gesamtmengen der betreffenden Substanz anzeigen. Dennoch ist eine vorläufige Berechnung mit Hilfe dieser Zahlen möglich, wenn man bedenkt, daß die Differenz zwischen den Gesamtmengen wahrscheinlich auf den ionisierten Anteil entfällt; denn die nicht ionisierten Salze beanspruchen äquivalente Mengen Anionen und Kationen. Auch ist von *Neuhausen* und *Marshall*[2]) durch elektrochemische Messung

[1]) Journ. of biol. Chem. **53**, 241, 1922.
[2]) Ebendaselbst **53**, 365, 1922.

wahrscheinlich gemacht, daß wenigstens Cl und Na ziemlich vollständig als Ionen vorhanden sind. Die Differenz zwischen A^- und K^+ würde dann entsprechend den Analysen von *Kramer* und *Tisdall*[1]) 25,8 Millimol betragen[2]). Für die absolute Größe von A^- könnte man nun zwei denkbare Extreme, etwa die, die einer Ionisation von 80 und von 90 Proz. der analytisch gefundenen Gesamtmenge der Säureäquivalente entsprechen, in die Berechnung einsetzen, und es würden die dabei gefundenen Werte der Donnankorrektur für diese Grenzfälle nicht erheblich voneinander abweichen. Die Berechnung soll aber nicht durchgeführt werden, da außer den bisher genannten Voraussetzungen, die quantitativ noch unsicher sind, noch ein ernster Einwand dagegen vorgebracht werden kann. Die Differenz von A^- und K^+ entspricht, wie aus dem oben gegebenen Schema ersichtlich, der Zahl der Ladungen des indiffusiblen Ions. Es ist auch bisher allgemein angenommen worden, daß dieses analytisch im Serum gefundene „Anionendefizit“ durch die negativen Ladungen der Eiweißkörper gedeckt sei. Dies ist aber neuerdings von *Mond*[3]) angezweifelt worden, der nicht glaubt, daß das Serumeiweiß in diesem Ausmaß ionisiert sein könne, dagegen für das Anionendefizit eine durch elektrometrische Titration des Serumdialysats gefundene unbekannte organische Säure in Anspruch nimmt. Dadurch würden diese Berechnungen hinfällig werden.

II.

Es war daher unerläßlich, zur Bestimmung der erforderlichen Größen den Dialyseversuch heranzuziehen; und zwar konnte er auf zwei Weisen ausgenutzt werden, nämlich durch Vergleichen der Analysen im Serum und im Dialysat und durch Messung des zwischen den beiden Flüssigkeiten auftretenden elektrischen Potentials. Beide Möglichkeiten führen wieder nicht zur Kenntnis der absoluten Größe der in Frage kommenden Ionenkonzentrationen, doch konnte damit eine für das Membrangleichgewicht charakteristische Größe bestimmt werden, nämlich das Verhältnis, in dem sich die Ionen zwischen Serum und Dialysat verteilen. Dieses Verhältnis ist für alle (einwertigen) Anionen das gleiche, und zwar sowohl für ein einzelnes Anion wie für die Summe sämtlicher, also $a^- : A^-$. Für die Kationen ist es der reziproke Wert.

---

[1]) l. c.

[2]) Anmerkung bei der Korrektur: *Marrack* (Biochem. Journ. **17**, 240, 1923) hält diesen Betrag des Anionendefizits für zu groß. Er findet an anorganischen Anionen 0,132, an Kationen 0,143 Mol. Siehe auch die Zusammenstellung der Werte von *Heubner*, Mineralstoffwechsel in *Dietrich-Kaminer*, Handb. d. Balneologie **2**, 193, 1922.

[3]) Pflügers Arch. **199**, 187, 1923.

Es sollen nun zunächst die Ergebnisse der chemischen Analysen besprochen werden.

1. *Chlor.* *Rona*[1]) beobachtete schon 1910 bei Kompensationsdialyseversuchen, daß das Chlor bei der Dialyse von Serum sich im Dialysat in höherer Konzentration findet. In der neuesten Arbeit von *Rona*, *Haurowitz* und *Petow*[2]) wird mittels der Methode einer modifizierten Kompensationsdialyse festgestellt, daß keine Verschiebung des Chlorgehaltes mehr eintritt, wenn das Serum 0,365 und das Dialysat 0,42 Proz. Cl′ enthält, wenn also in diesem 15 Proz. mehr als im Serum ist. Bei meinen eigenen Analysen, die zum größten Teile nach der Messung des kolloidosmotischen Druckes an den dazu benutzten Flüssigkeiten vorgenommen wurden, fand ich im Mittel von 20 Versuchen im Serum 0,410, im Dialysat 0,469 Proz. Cl, im letzteren also 14,5 Proz. mehr, in guter Übereinstimmung mit *Ronas* Ergebnissen. Bei der Ultrafiltration ist der Chlorüberschuß des Filtrats meist geringer: *Neuhausen* und *Pinkus*[3]) fanden etwa 11 Proz., *Rusznyák*[4]), der mit hohem Druck filtriert, nur 3 Proz. Offenbar ist der Filtrationsdruck hier nicht ohne Einfluß; man kann deswegen das Ultrafiltrat auch dann dem Dialysat nicht als gleichwertig ansehen, wenn sich die Flüssigkeitsmengen nur unwesentlich ändern.

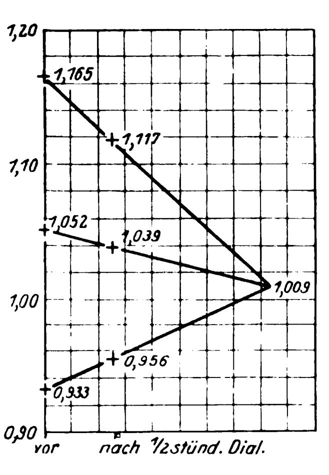


Abb. 1.

2. *Natrium.* Über das Natrium liegen in der Literatur nur wenig Versuche vor. *Rona*, *Haurowitz* und *Petow*[5]) geben an, daß bei der Kompensationsdialyse keine Verschiebung mehr eintritt, wenn das Serum etwa 0,305, die Außenlösung 0,320 Proz. Na enthält. Man kann aber die in der Tabelle V ihrer Arbeit mitgeteilten Versuche noch genauer auf graphischem Wege auswerten. Rechnet man die Konzentrationen der Dialysate in der Weise um, daß man diejenigen der dazugehörigen Sera als eins nimmt, berechnet dann aus den je vier Versuchen a, b und c die Mittel und zeichnet die Analysen der Außenlösungen vor und nach der Dialyse im beliebigen Abstande in ein Koordinatensystem, so schneiden sich die Verbindungslinien fast genau in einem Punkte, und dieser entspricht der Konzentration der Außenlösung, bei der keine Veränderung mehr eintreten wird (s. Abb. 1). Er liegt bei 1,009. Man kann also mit ziemlicher Sicherheit sagen, daß das Dialysat im Gleichgewicht etwa 1 Proz. Na mehr enthält als das Serum. Einige eigene Versuche ergaben im Durchschnitt ebenfalls einen ganz wenig größeren Natriumgehalt des Dialysats, doch waren die Schwankungen zu groß, als daß ich sie verwerten möchte. *Neuhausen* und *Pincus*[5]) fanden in einem Ultrafiltrationsversuch im Serum 0,336 Proz. Na, im Filtrat

[1]) Diese Zeitschr. **29**, 501, 1910.
[2]) Ebendaselbst **149**, 393, 1924.
[3]) Journ. of biol. Chem. **57**, 99, 1923.
[4]) Diese Zeitschr. **110**, 60, 1920.
[5]) l. c.

ebenfalls 0,336, im Rückstand 0,317 Proz., *Atchley, Loeb* und *Benedict* geben ohne Zahlen an, im Serum und Dialysat gleichen Natriumgehalt gefunden zu haben.

3. *Bicarbonat.* Über die Verteilung des Bicarbonats fand ich bei *Rona*[1]) und bei *Atchley, Loeb* und *Benedict*[2]) die Angabe, daß sie etwa gleichmäßig sei. In einer Reihe eigener Versuche, bei denen unter Luftabschluß dialysiert und dann die CO_2 im *Barcroft*schen Manometer bestimmt wurde, ergab sich, allerdings mit unerklärlich großen Schwankungen, daß der Gehalt an Gesamtkohlensäure im Dialysat im Mittel 13 Proz. größer ist. Da die Sera, die ich verwendete, einige Zeit an der Luft gestanden hatten, so enthielten sie kaum freie Kohlensäure, so daß diese Differenz auf das Bicarbonat zu beziehen ist. Die Verteilung desselben scheint also nach meinen Versuchen der des Chlors ziemlich ähnlich zu sein. Doch muß man diese Frage für noch nicht geklärt ansehen. Die übrigen Ionen kommen quantitativ für unsere Fragestellung kaum in Betracht. Immerhin ist es beachtenswert, daß *Rona* und *Petow*[3]) für das Kalium einen anderen Verteilungstypus als für das Natrium feststellen konnten.

Um nun aus diesen Analysen das Verhältnis $a^- : A^-$ berechnen zu können, muß einerseits der undissoziierte Anteil subtrahiert werden, andererseits müssen die in der Volumeneinheit Serum gefundenen Werte eine Korrektur erfahren, die den „nichtlösenden Raum“ des Serums berücksichtigt. Dies möge durch Multiplikation mit dem Faktor x geschehen. Die Dissoziation betrage 85 Proz.; dann wird der undissoziierte Anteil innen und außen 15 Proz. der gesamten Konzentration außen ausmachen. Die analytisch gefundenen Mengen in der Volumeneinheit Serum und Dialysat seien für Na und Cl: Na_S, Na_D, Cl_S, Cl_D. Dann sind die Ionenkonzentrationen, im Serum auf den lösenden Raum korrigiert,

$$\begin{array}{ll|ll} Na_i & = x\,Na_S - 0{,}15\,Na_D & Na_a & = 0{,}85\,Na_D \\ Cl_i & = x\,Cl_S - 0{,}15\,Cl_D & Cl_a & = 0{,}85\,Cl_D. \end{array}$$

Da nun die Gleichgewichtsbedingung $Na_i \,.\, Cl_i = Na_a \,.\, Cl_a$ ist, so ist

$$(x\,Na_S - 0{,}15\,Na_D)\,(x\,Cl_S - 0{,}15\,Cl_D) = 0{,}85\,Na_D \,.\, 0{,}85\,Cl_D.$$

Nehmen wir jetzt, da die Gleichung keine absoluten Werte verlangt, Na_S und $Cl_S = 1$ an, so ist also nach dem Ergebnis der Analysen $Na_D = 1{,}01$ und $Cl_D = 1{,}145$. Setzen wir diese Werte in die Gleichung ein und lösen sie nach x auf, so ergibt sich $x = 1{,}0757$. Berechnet man hieraus den nichtlösenden Raum, der gleich $1 - 1/x$ ist, so ergeben sich 7,04 Proz. Der Wert von x ändert sich übrigens nur minimal, wenn man bei der Berechnung von einem anderen Dissoziationsgrad ausgeht: bei vollständiger Dissoziation wäre $x = 1{,}0753$, bei 80 Proz. ist $x = 1{,}0759$.

---

[1]) Diese Zeitschr. 48, 278, 1913.

[2]) Proc. of the soc. f. exper. Biol. and Med. 20, 238, 1923.

[3]) l. c.

Polányi[1]), von dem ich den Ausdruck „nichtlösender Raum" entlehnte, fand für denselben mit anderen Methoden Werte derselben Größenordnung. Zu einem unverständlichen Ergebnis führt es aber, wenn man das Volumen der dispersen Phase ganz vernachlässigt, wie es bisweilen geschehen ist. So kommt *Meier-Gollwitzer*[2]) auf Grund dieser Nichtbeachtung zu der widersprechenden Annahme, daß zwar die Chlor-, aber nicht die Natriumionen den Forderungen des Membrangleichgewichts folgten. Die Theorie erfordert aber, daß, wenn überhaupt ein Verteilungsgleichgewicht vorhanden ist, dann alle Ionen in der geschilderten Weise daran teilhaben. Findet man eine andere Verteilung, so muß man entweder die Annahme des Donnangleichgewichts ablehnen oder aber für die betreffende Substanz eine besondere — etwa komplexe — Ionisationsform annehmen.

Setzt man nun x in die Gleichungen ein und berechnet $Na_i : Na_a$ und $Cl_a : Cl_i$, so ergibt sich 1,077. Dies ist das gesuchte Verhältnis $a^- : A^-$.

Hier ist die Variation mit dem angenommenen Dissoziationsgrad etwas größer: bei 100 Proz. ist $a^- : A^- = 1{,}065$, bei 80 Proz. 1,082. Dieser Berechnung liegt wieder die vielleicht nicht unanfechtbare Voraussetzung zugrunde, daß das Cl und Na nur in Form gewöhnlicher Salze vorliegen. Es ist bereits oben erwähnt worden, daß die Versuche von *Neuhausen* und *Marshall* diese Annahme stützen; da man außerdem bei der Addition der analytisch gefundenen Salze ohnedies schon Schwierigkeiten hat, die osmotische Konzentration zu erklären, so ist es sicher erlaubt, etwaige Komplexionisationen hier zu vernachlässigen. Weiter könnten undissoziierte Verbindungen mit den Eiweißkörpern bestehen; für das Chlor ist dies bei deren negativer Ladung auszuschließen, und für das Natrium kann man nach dem Befunde *Monds*[3]), daß die Pufferungskurve des Serums im Gebiet der normalen Reaktion durch Kochsalzzusatz kaum beeinflußt wird, schließen, daß ebenfalls kaum undissoziiertes Natriumalbuminat vorhanden ist.

III.

Ein dritter Weg zur Bestimmung des Verteilungsverhältnisses $a^- : A^-$ benutzt das zwischen den beiden durch die Membran getrennten Lösungen bestehende Potential. Dies ist ebenfalls von *Donnan* bei der Darlegung der Membrangleichgewichte theoretisch abgeleitet worden. Ein Potential, das aus der Konzentrationsdifferenz eines Ions hervorgeht, ist $RT \ln C_1/C_2$. Da beim Membrangleichgewicht für alle Anionen das

[1]) Diese Zeitschr. **104**, 237, 1920.
[2]) Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **46**, 15, 1925.
[3]) Pflügers Arch. **200**, 422, 1923.

Verhältnis $C_1 : C_2$ dasselbe ist, so ist das Membranpotential ohne weiteres $RT \ln a^-/A^-$. Natürlich geben die entgegengesetzt geladenen Kationen, die sich alle im umgekehrten Verhältnis verteilen, das gleiche Potential. Dieses Potential muß nun durch Ableitung mit zwei Kalomelelektroden aus den beiden Flüssigkeiten meßbar sein.

In einigen Vorversuchen ging ich in der Weise vor, daß ich kleine, etwa 1 ccm fassende Dialysierhülsen mit Serum füllte, verschloß und in Röhrchen mit etwa 0,5 ccm Ringer einige Stunden stehenließ. Dann wurden Serum und Dialysat durch enge Glasröhren mit Gefäßen in Verbindung gebracht, die mit gesättigter KCl-Lösung gefüllt waren, in diese tauchten die Elektroden. Es ergaben sich Spannungen, die zwischen 1 und 4 Millivolt lagen. Sie waren zeitlich nicht konstant, wohl deshalb, weil in das Serum allmählich Flüssigkeit hereinströmte.

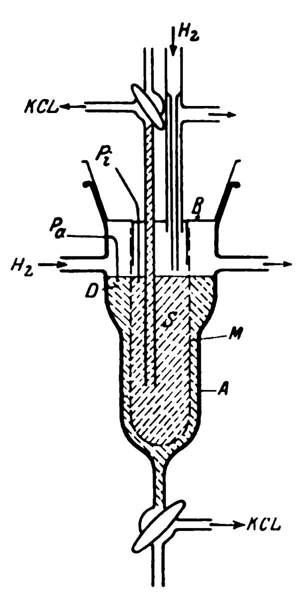


Abb. 2. Erläuterung s. Text, etwa 1/2 natürliche Größe.

Um diesen Übelstand zu beseitigen und um gleichzeitig die Wasserstoffionenkonzentration bestimmen zu können, benutzte ich den in der Abb. 2 dargestellten Apparat. Er besteht aus einem äußeren Gefäß A, das unten in einen Dreiweghahn endigt, durch den eine Verbindung mit gesättigter KCl-Lösung hergestellt werden kann. In dieses paßt ein Verschlußteil B, der auf einem angesetzten Rohre die Dialysiermembran trägt, die hier luftdicht befestigt wird. Dadurch werden die beiden Räume S und D zur Aufnahme des Serums und des Dialysats getrennt. Das Serum kann durch ein weiteres Rohr mit Dreiweghahn mit gesättigter KCl-Lösung verbunden werden. P_i und P_a sind platinierte Platindrähte. Durch die mit H_2 bezeichneten Röhrchen kann Wasserstoff in der Richtung der Pfeile hindurchgeleitet werden.

Der Apparat wurde nun innen mit Serum und außen mit Ringer gefüllt und durch die beiden Räume etwa 20 Minuten lang Wasserstoff geleitet. Dann wurden sie beide mit Manometern in Verbindung gebracht und der Druck so eingestellt, wie es dem kolloidosmotischen Druck des Serums entspricht, also mit einem Überdruck von 3 cm Hg auf der Seite des Serums. Jetzt wurde das Ganze zur Dialyse 6 bis 8 Stunden stehengelassen und nur von Zeit zu Zeit der Druck neu eingestellt. Danach wurden die Messungen ausgeführt, und zwar mit Hilfe der

für die Bestimmung des Wasserstoffpotentials üblichen Kompensationsanordnung. Die Tabelle zeigt die Ergebnisse an acht verschiedenen Seren, die als normal anzusehen waren. Sie stammen von leicht CO-vergifteten, Hypertonikern, Neurasthenikern und ähnlichen Fällen. Die Zahlen bedeuten Potentiale in Millivolt, H_i und H_a sind die beiden Wasserstoff-, K_i und K_a die beiden Kalomelelektroden; $H_i - K_i$ ist also das Potential zwischen der Wasserstoff- und Kalomelelektrode des Serums, $H_a - K_a$ dasselbe im Dialysat, die beiden Spalten 2 und 4 sind kreuzweise gemessen.

Tabelle.

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8
	$H_i - K_i$	$H_i - K_a$	$H_a - K_a$	$H_a - K_i$	$K_i - K_a$ (direkt)	1—2	3—4	$K_i - K_a$ (berechnet)
1	708,35	710,2	—	—	—	1,85	—	1,85
2	711,4	713,0	713,8	712,1	1,9	1,6	1,7	1,65
3	712,9	714,8	702,8	700,8	1,8	1,9	2,0	1,95
4	713,0	714,8	693,9	692,3	2,3	1,8	1,6	1,7
5	713,6	715,3	691,3	689,8	—	1,7	1,5	1,6
6	720,0	721,9	708,0	706,1	—	1,9	1,9	1,9
7	718,0	719,7	689,6	688,0	—	1,7	1,6	1,65
8	722,4	724,6	705,6	703,4	—	2,2	2,2	2,2
							Mittel:	1,81

Leider war es auf diese Weise nicht möglich, zu einer konstanten Einstellung der Wasserstoffpotentiale zu gelangen, nach einigen Stunden waren die Werte fast immer um einige Millivolt verschoben. Auch die von *A. V. Hill*[1]) eingehend begründete theoretische Forderung, daß die beiden Platinelektroden im Gleichgewicht keinen Potentialunterschied haben, daß also hier die Werte der Spalten 1 und 4 und 2 und 3 unter sich gleich sein müssen, ist nicht erfüllt. Beides dürfte auf mangelhafte Wasserstoffsättigung zurückzuführen sein, da die Apparatur ein Umschütteln nicht erlaubte; die Messungen können also zur Errechnung des p_H nicht verwendet werden. In der Spalte 5 sind einige direkte Messungen des Membranpotentials durch Ableitung mit zwei Kalomelelektroden, deren eine das Serum, die andere das Dialysat berührte, mitgeteilt. Sie sind aus zwei Gründen unzuverlässig: einmal gestattete die verwendete Kompensationsanordnung die Messung so kleiner Spannungen höchstens mit einer Genauigkeit von 0,5 Millivolt, andererseits muß die nur sehr schwer vermeidbare Differenz der beiden Kalomelelektroden in Abzug gebracht werden. Infolgedessen ist eine

[1]) Proc. of the Royal Soc., Ser. A, 102, 705, 1923.

Verwendung dieses direkt bestimmten Membranpotentials kaum möglich.

Nun sind aber die Werte der ersten vier Spalten durch Interpolation der Ausschläge des Kapillarelektrometers ohne Schwierigkeit auf 0,1 Millivolt genau bestimmbar. Aus ihnen läßt sich nun das Membranpotential durch Subtraktion der Werte von Spalte 1 und 2 und 3 und 4, die sämtlich mit derselben Normalelektrode bestimmt sind, berechnen, wie es in den Spalten 6 und 7 geschehen ist. Man sieht, daß diese Werte sich höchstens um 0,2 Millivolt unterscheiden. Ebenfalls war die Veränderung dieser Differenz nicht größer, wenn die Messungen nach mehreren Stunden wiederholt wurden, obwohl jetzt die absoluten Größen der ersten vier Spalten um mehrere Millivolt anders waren. Daraus kann man wohl auf eine große Zuverlässigkeit dieser Bestimmungsweise schließen. Spalte 8 enthält nun die Mittel aus 6 und 7, und man kann annehmen, daß diese Werte den tatsächlichen Membranpotentialen sehr nahe kommen. Das Mittel sämtlicher Versuche ist 1,81 Millivolt. Hieraus ergibt sich $a^- : A^- = 1{,}074$ (20° C), während der größte Wert (2,2), 1,092 und der kleinste (1,6) 1,066 bedeutet. Der Mittelwert liegt also sehr nahe bei dem aus den analytischen Resultaten gefundenen 1,077, worin ich eine nicht unwesentliche Stütze für die Berechnungsweise der letzten Größe, wie ich sie im vorigen Abschnitt vorgenommen habe, erblicken möchte.

IV.

Man kann nun mit den gefundenen Größen an die Berechnung der Donnankorrektur des kolloidosmotischen Druckes des Serums herangehen. Vorher sei noch über Messungen dieses Druckes berichtet. Ich benutzte dazu die von *Krogh* angegebene Anordnung, die eine Verkleinerung der *Sörensen*schen[1]) Apparatur darstellt. Das Prinzip ist, daß man eine kleine Dialysierhülse mit einem Kapillarrohr verbindet, das zum Teil noch mit Serum gefüllt wird. Oben an diese Kapillare wird ein meßbarer variabler Luftdruck angeschlossen und derjenige Druck abgelesen, bei dem sich das Niveau nicht ändert. Zu diesem Druck wird die Steighöhe in der Kapillare, abzüglich der durch Kapillarkraft bewirkten, addiert. Die Ablesung nahm ich nach dem Vorgang von *Schade* und *Claussen* so vor, daß ich bei verschiedenen Drucken die Änderung des Niveaus in der Zeiteinheit mit dem Okularmikrometer des Ablesemikroskops bestimmte und daraus den Nullpunkt interpolierte. Bei der graphischen Darstellung ergibt die Kurve dieser Ablesungen in der Nähe des Nullpunktes keine Gerade, sondern

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **106**, 1, 1919.

tangiert ihn in der Weise des mitgeteilten Beispiels (Abb. 3). Dasselbe zeigt auch eine graphische Darstellung der Versuche *Sörensens*. Es schien daher die Ablesung an zwei zu beiden Seiten des Nullpunktes — diesem möglichst gleich nahe — gelegenen Punkten denen in größerer Entfernung vorzuziehen, wie sie *Schade* und *Claussen* in der Annahme, daß es sich um einen geradlinigen Verlauf handele, vornehmen.

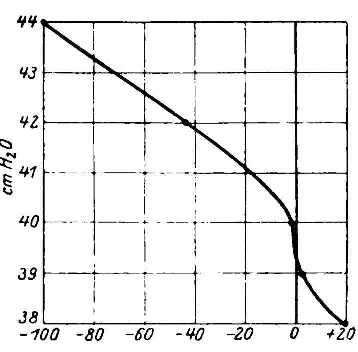


Abb. 3.
Die Abszisse bedeutet die Niveauverschiebung in der Kapillare in Teilstrichen des Okularmikrometers pro Minute.

In dieser Weise wurden von einer Reihe von Seren je vier bis sechs Parallelbestimmungen ausgeführt. Die maximalen Unterschiede der einzelnen Parallelbestimmungen waren etwa 10 Proz. Das Mittel sämtlicher Drucke lag bei normalen Seren ziemlich genau bei 40 cm Wasser (37° C). Die Extreme waren 36,6 und 42,5. *Krogh* fand bei seinen Messungen mit derselben Apparatur 40 bis 52 cm H_2O, *Schade* und *Claussen* mit dem von ihnen konstruierten „Onkometer" 2,5 cm Hg (beides für Plasma). Worauf die Unterschiede beruhen, ist unbekannt; eine mögliche Erklärung wird unten diskutiert werden.

Um die absolute Größe des kolloidosmotischen Druckes mit der Donnankorrektur zu vergleichen, möchte ich den von mir gefundenen Wert in Rechnung setzen, da er unter den gleichen Bedingungen gewonnen ist, unter denen auch das Membrangleichgewicht untersucht wurde: Verwendung gleicher Ringerlösung und gleichen Verhältnisses der Mengen von Serum und Dialysat.

Es soll nun die Donnankorrektur, also die Größe $A^- + K^+ - 2a$, berechnet werden. Der Gefrierpunkt des Serums und also auch des Dialysats ist —0,56°; er entspricht einer osmotischen Konzentration von 0,303 m [*Höber*[1])]. Diese ist im wesentlichen auf Elektrolyte zurückzuführen, und nimmt man sie wieder zu 85 Proz. ionisiert an, so ergibt sich die Konzentration der Ionen einer Ladung, also a^-, zu etwa 0,140 n. Benutzt man jetzt zur Errechnung von A^- und K^+ das Verhältnis $a^- : A^- = 1{,}075$, das etwa in der Mitte zwischen dem aus den Analysen und dem aus den Potentialen gefundenen liegt, so ergibt sich für $K^+ = 0{,}140 \,.\, 1{,}075 = 0{,}150\,50$ und $A^- = 0{,}140 : 1{,}075 = 0{,}130\,23$ und $A^- + K^+ - 2a = 0{,}000\,73$. Der Druck der Donnankorrektur würde also einer 0,000 73 n Lösung entsprechen, dieser beträgt bei 37° C

[1]) Physik. Chem. d. Zelle u. d. Gew., 5. Aufl., S. 30.

18,6 cm Wasser. Die beiden Voraussetzungen dieser Berechnung, nämlich die Annahme von $a^- = 0{,}140$ n und das Verhältnis $a^- : A^- = 1{,}075$ sollen nicht als absolut sicher hingestellt werden; es ist daher von Interesse, die Donnankorrektur auch für Werte auszurechnen, die von denen hier angenommenen abweichen. Nimmt man a^- : 0,130 an, so ergibt sich für $a^- : A^- = 1{,}075 : K^+ = 0{,}12093$ und $A = 0{,}13975$; die Donnankorrektur ist 0,00068 n oder 17,3 cm Wasser. Variiert man andererseits $a^- : A^-$ von 0,1070 bis 0,1080, so ändert sie sich bei $a = 0{,}140$ von 0,00064 n = 16,3 cm Wasser bis 0,00083 n = 21,1 cm Wasser. Daß ein geringer Anteil der Ionen des Serums zweiwertig ist, ist hier nicht berücksichtigt worden, dürfte aber ohne nennenswerten Einfluß sein.

Das Ergebnis wäre also, daß von 40 cm kolloidosmotischem Druck 18,6 cm auf die Donnankorrektur entfallen, also nach der obigen Darstellung nicht auf die Konzentration der indiffusiblen Eiweißteilchen zurückzuführen sind, sondern durch kristalloide Teilchen ausgeübt werden, deren Konzentration auf der Seite des Serums infolge des Membrangleichgewichts größer ist. Für diesen Anteil kann man theoretisch die Veränderlichkeit unter bestimmten Bedingungen voraussagen. Einmal ist die Größe des Membrangleichgewichts von der Salzkonzentration in der Weise abhängig, daß es mit verringertem Salzgehalt zunimmt. Verkleinert man die Salzkonzentration im Osmometerversuch dadurch, daß man Serum gegen destilliertes Wasser dialysiert, so findet man tatsächlich ein Ansteigen des kolloidosmotischen Druckes, wie sich aus einigen von mir ausgeführten Versuchen ergibt. Dasselbe fanden schon 1902 *Moor* und *Parker*[1]) bei Schafserum. Eine zweite praktisch bedeutendere Konsequenz ist die, daß der kolloidosmotische Druck von p_H abhängig sein muß, da ja die Ionisation der Eiweißkörper und damit die Zahl der für das Membrangleichgewicht maßgeblichen indiffundiblen Ladungen mit der Entfernung vom isoelektrischen Punkte zunimmt. Tatsächlich haben *Adamson* und *Roaf*[2]) gefunden, daß der osmotische Druck des Serums erst ab-, dann wieder zunimmt, wenn Säure zugesetzt wird, bei Alkalizusatz sofort ansteigt. Es ergibt sich daraus die Notwendigkeit, die Messung des kolloidosmotischen Druckes bei bestimmtem p_H vorzunehmen. Es besteht die Möglichkeit, daß bei den Bestimmungen von *Krogh* und von mir die Reaktion durch die zur Dialyse verwendete Ringerlösung nach der alkalischen Seite verschoben ist und dadurch größere Werte gefunden sind als von *Schade* und *Claussen*, deren Apparatur den Druck bei der genuinen Reaktion des Serums zu messen gestattet. Es ist also

[1]) Amer. Journ. of Physiol. 7, 261, 1902.
[2]) Biochem. Journ. 3, 422, 1908.

für die gefundenen Ergebnisse die Einschränkung zu machen, daß sie nur unter den vorliegenden Versuchsbedingungen Gültigkeit haben, daß aber für die Übertragung auf physiologische Verhältnisse das p_H und die Unterschiede zwischen dem Plasma des strömenden Blutes und dem hier benutzten Spontanserum berücksichtigt werden müssen.

Von Interesse ist noch, daß sich aus den gefundenen Größen auch die mittlere Ladung und die Teilchenzahl der Serumkolloide berechnen läßt. Die Ladung in Äquivalenten $n \cdot \mathfrak{R}$ ergibt sich aus $K^+ - A^-$ zu etwa 20 Millimol. Die Teilchenkonzentration entspricht dem nach Abzug der Donnankorrektur noch übrigbleibenden Drucke von etwa 21 cm Wasser. Das bedeutet bei 37° C 0,8 Millimol oder eine mittlere Teilchengröße von 85 000 (bei 7 Proz. Kolloiden). Das Äquivalentgewicht der beim p_H 7,8 vorliegenden Dissoziationsstufe würde dann etwa 3400 sein, das einzelne Teilchen im Mittel 25 Ladungen tragen.

Zum Schluß seien einige Arbeiten berücksichtigt, deren Ergebnisse quantitativ von den meinigen abweichen. *Lehman* und *Meesmann*[1]) haben sich mit dem Donnangleichgewicht zwischen dem Blute und dem Kammerwasser des Auges beschäftigt. Sie berechnen die Größe desselben allein aus vergleichender Bestimmung des Cl'-Gehaltes von Plasma und Kammerwasser, ohne dabei die Werte für den geringeren Wassergehalt des Plasmas zu korrigieren. Infolgedessen kommen sie zu Größen, die sich mit den sonst gefundenen nicht vereinigen lassen. Außerdem bestimmen sie ein Potential zwischen Blut und Kammerwasser von 6 bis 15 Millivolt und fassen dies als Donnanpotential auf. Wäre es ein solches, so würden z. B. 10 Millivolt einem Verhältnis $a^- : A^- = 1,5$ entsprechen; damit läßt sich selbst das von ihnen angegebene unkorrigierte Verhältnis $Cl_a : Cl_i$ nicht in Einklang bringen.

Mond[2]) kommt aus theoretischen Gründen zu der Anschauung, daß den Eiweißkörpern bei der Reaktion des Serums eine ins Gewicht fallende Ladung nicht zukommen und daß man nicht annehmen könne, daß das Defizit an Anionen, das die Analysen der anorganischen Bestandteile des Serums ergeben, durch dissoziiertes Eiweiß gedeckt sei. Dieses Defizit beträgt nach *Kramer* und *Tisdall* 25,8 Millimol[3]). Unter unseren Versuchsbedingungen ergab sich die Ladung der Eiweißkörper zu 20 Millimol. Es bleibt also tatsächlich ein gewisser — bei p_H 7,4 sicher noch größerer — Anteil des Anionendefizits ungeklärt, und meine Befunde stehen somit nicht im Widerspruch zu dem Vorhandensein einer unbekannten Säure, das *Mond* und *Netter*[4]) aus der elektrometrischen Titration des Ultrafiltrats postulieren. Die Tatsache, daß

[1]) Pflügers Arch. 205, 210, 1924.
[2]) l. c.
[3]) Siehe aber die Anmerkung S. 218.
[4]) Pflügers Arch. 207, 515, 1925.

die elektrometrische Titrationskurve des Serums im Gebiet zwischen der aktuellen Reaktion und dem isoelektrischen Punkte der Eiweißkörper ein Minimum der Pufferung aufweist, widerlegt meines Erachtens nicht absolut eine puffernde Wirkung der Eiweißkörper. Quantitativ reicht nämlich die hier vorhandene Pufferung aus, um eine Ladung von der Größe, wie sie hier gefunden wurde, möglich erscheinen zu lassen. Und daß diese Pufferung größtenteils durch indiffundible Stoffe bewirkt wird, zeigt die Titrationskurve des Ultrafiltrats, die in dem genannten Bezirk fast senkrecht verläuft. Bringt man die von *Mond* mitgeteilten Titrationskurven des Serums und des Ultrafiltrats auf denselben Maßstab und zeichnet sie ineinander, so zeigt sich, daß 10 ccm Serum 2 ccm n/10 HCl mehr verbrauchen, um von p_H 7,8 bis p_H 5,0 zu gelangen, als die gleiche Menge Ultrafiltrat. Dies entspricht 0,02 n entionisierter Säure und stimmt sehr gut mit der hier gefundenen Ladung der Eiweißkörper überein.

Nun bestehen noch zwei Bedenken, die ein weiteres quantitatives Studium notwendig erscheinen lassen. Einmal sind die Potentiale aus technischen Gründen nicht wie die Drucke bei 37° C gemessen worden; daß sie bei 37° von etwas anderer Größe sind, scheint aus folgendem Grunde wahrscheinlich: das p_H des Serums ändert sich bei Temperaturänderung kaum. Da aber die Dissoziationskonstante des Wassers stark von der Temperatur abhängt, bedeutet dasselbe p_H bei 37° stärker alkalische Reaktion als bei 20°. Zweitens treten nach den neueren Dissoziationstheorien an die Stelle der Ionenkonzentrationen die Aktivitäten, von denen nicht ohne weiteres anzunehmen ist, daß sie im Serum und Dialysat dieselbe Größe haben. Der Größenordnung nach aber dürften die bisherigen Bestimmungen schon ein zutreffendes Bild geben.

Zusammenfassung.

Es wird eine kurze Darstellung des Donnangleichgewichts in einer auf das Serum anwendbaren Form gegeben.

Die für dasselbe charakteristische Größe Anionenkonzentration im Serum : Anionenkonzentration im Dialysat wird aus vergleichenden chemischen Analysen zu 1,077 gefunden bei einem „nichtlösenden Raum“ von 7 Proz.

Es wird das Membranpotential gemessen. Aus dem Mittelwert 1,81 Millivolt ergibt sich dasselbe Verhältnis zu 1,074.

Daraus berechnet sich die Donnankorrektur zu 18,6 cm H_2O bei einem gesamten kolloidosmotischen Druck von 40 cm.

Über die Zustandsform des Calciums im Serum.

Von

A. Nitschke.

(Aus der medizinischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Altona.)

(Eingegangen am 4. September 1925.)

Die Zustandsform des Calciums im Serum ist trotz ihrer Bedeutung für die Physiologie des Organismus noch keineswegs sicher geklärt.

Es kann nach den Untersuchungen von *Rona* und *Takahashi* (2) nur zu einem Bruchteil ionisiert sein. Dieser ionisierte Anteil wird bei Gegenwart von Bicarbonat durch folgende Gesetzmäßigkeit bestimmt:

$$\frac{[Ca^{++}] . [HCO_3^-]}{H^+} = K.$$

Rona und *Takahashi* (2) haben den Wert der Konstanten in wässerigen Lösungen zu 340 gefunden, woraus sich die maximale Ionisierung im Serum zu etwa 2,5 mg berechnet. Der Gesamtcalciumgehalt im Serum beträgt aber etwa 10 mg, von denen nach Versuchen mit der Kompensationsdialyse etwa 7 mg diffundibel sind. *Rona* nimmt an, daß die im Dialysat überschüssigen 4,5 mg molekulares, übersättigt gelöstes $Ca(HCO_3)_2$ seien, und deutet die im Serum noch außerdem vorhandenen 3 mg mit Wahrscheinlichkeit als Eiweiß-Calciumverbindung. Zu ähnlichen Werten kamen *Neuhausen* und *Marschall* (3). Sie fanden bei der elektrometrischen Messung die Ca-Ionisation zu 20 ± 5 Proz. Ebenso *Brinkmann* und *v. Dam* (4), die aus der Löslichkeitsgrenze bei Oxalatzusatz die Ionisation bestimmten (2,2 mg). *Budde* und *Freudenberg* (5) geben für die Ionisation noch geringere Werte an, weil nach ihrer Meinung beträchtliche Ca-Werte an die den Reststickstoff bildenden Substanzen gebunden werden.

Eine andere Möglichkeit der Deutung der *Rona*schen Versuche mit der Kompensationsdialyse wird von *Michaelis* (6) und *Hollo* (7) darin gesucht, daß das frei dialysable, nach *Rona* nicht ionisierte Ca kein übersättigtes Bicarbonat, sondern eine andere undissoziierte, bisher unbekannte Verbindung sei.

An gleicher Stelle betont *Michaelis*, daß die Ionisierungszahlen *Ronas* zu niedrig sein könnten (Einfluß von Temperatur und Aktivitätstheorie).

In späteren Versuchen weist *Rona* in Gemeinschaft mit *Petow* (8) das Bestehen von Donnangleichgewichten für das Serum-Ca nach. Ihre Ergebnisse lassen aber keinen bindenden Schluß auf den Zustand des Calciums unter physiologischen Bedingungen zu, da sie die oft erheblich saure

Reaktion durch HCl-Zusatz herstellten und in ihren Beobachtungen über den Bicarbonatgehalt nichts mitteilen.

Die eigenen Versuche stellten es sich zur Aufgabe, den Anteil des Serumcalciums zu bestimmen, der den Donnangleichgewichten folgt, der also ionisiert ist.

Entsprechend diesen Gleichgewichten (9) muß dort, wo ein ionisiertes Kolloid durch eine für dasselbe selbst undurchlässige Membran von einer salzhaltigen, kolloidfreien und frei diffusiblen Außenlösung getrennt ist, eine verschiedenartige Verteilung der einzelnen Ionen innerhalb und außerhalb der Membran eintreten, und zwar in der Weise, daß das Produkt der Anionen und Kationen beider Seiten einander gleich wird. Ferner muß auch das Produkt jedes beliebigen Ionenpaares auf beiden Seiten das nämliche sein.

Bezeichnet man mit $[a]$ die molare Konzentration des Kolloidkations, mit [Cl] und [Na] die molare Ionenkonzentration im Serum und mit $[Cl_1]$ und $[Na_1]$ die molare Ionenkonzentration im Dialysat, so muß bei Gleichgewicht

$$[a] + [Cl^-] = [Na^+]$$

$$[Cl_1^-] = [Na_1^-]$$

$$\text{und } [Na^+ \times Cl^-] = [Na_1^+ \times Cl_1^-]$$

sein. Bei Gegenwart anderer Salze, etwa eines Calciumsalzes, muß das Produkt lauten:

$$[Ca^{++} \times Cl^- \times Cl]^- = [Ca_1^{++} \times Cl_1^- \times Cl_1^-].$$

Im folgenden wird dieses Produkt zur Berechnung der Ca-Ionisation benutzt, wobei das Cl im Serum und Dialysat als vollkommen ionisiert vorausgesetzt wird, was nicht ganz richtig sein dürfte.

Mond (10) lehnt nach seinen Untersuchungen das Bestehen von Donnangleichgewichten für die Serumeiweißkörper ab. Doch dürfte seine Beweisführung nicht als erschöpfend betrachtet werden, wenn wir die — nur durch das Donnangleichgewicht erklärbare — Umkehrung des Verteilungsverhältnisses von Cl und Ca zwischen Serum und Dialysat am isoelektrischen Punkt betrachten (*Rona* und *Petow*). An diesem Punkt muß nämlich die Umladung der bei alkalischer Reaktion vorwiegend positiv geladenen Kolloidteilchen in vorwiegend negativ geladene erfolgen. Einige eigene Versuche zeigen dies ebenfalls (Ansäuerung mit HCl).

A.

	Serum				Dialysat			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Cl . .	106	116	143	179	133	131	156	159
Ca . .	10,4	9,0	8,2	6,5	4,3	5,7	7,3	7,6
E . %	9	9	7,5	7,6	—	—	—	—
p_H . .	10,43	—	—	—	10,50	8,46	5,47	3,50

Zu den Serumwerten I, II, III und IV gehören die entsprechenden Werte I, II, III, IV im Dialysat.

Bei Versuch III ist angenähert der isoelektrische Punkt für Serumeiweiß getroffen. Theoretisch muß die Cl'- und Ca-Konzentration auf beiden Seiten gleich sein, sie zeigt aber im Serum einen niedrigeren Wert als im Dialysat, der auf das Eiweißvolumen zu beziehen ist; Es würde sich aus dem Cl ein Eiweißvolumen von 9 Proz., aus dem Ca eines von 11 Proz. berechnen, was mit den bekannten Werten (etwa 8 Proz.) innerhalb der Fehlergrenze der Methode übereinstimmt.

Technik. Zur Kompensationsdialyse wurden als Außenflüssigkeit Ringerlösungen von etwa 7 mg $CaCl_2$ und wechselndem Bicarbonatgehalt genommen und 24 bis 48 Stunden gegen Serum dialysiert, das sich in verschlossenen Kollodiumhülsen befand. Es wurden in Serum und Dialysat die Chloride [*Nitschke* (1)], Bicarbonat (*van Slyke*) und Calcium (*Kramer* und *Tisdall*) das Eiweiß refraktometrisch, sowie im Dialysat p_H mit Indikatoren (nach *Sörensen*) oder mit der stehenden Wasserstoffblase bestimmt. Die Cl-Werte sind in Millimol, die Ca-Werte in Milligrammen angegeben.

Es werden im folgenden einige Versuche angeführt, in denen bei einem p_H von etwa 7,9 das Gleichgewicht bei wechselndem Bicarbonat und Ca-Gehalt beobachtet wurde.

B.

	Serum					Dialysat				
	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
Cl . .	122	113	115	122	122	135	126	129	136	136
Ca .	10,5	9,8	8,2	15,5	19,9	6,4	5,7	4,6	9,1	11,8
E . .	7,7	7,4	7,0	7,4	7,4	—	—	—	—	—
HCO_3 %	ca. 20	ca. 20	49,5	28,5	27,1	—	—	52,8	33,8	31,9
p_H .	—	—	—	—	—	7,94	7,80	7,95	7,85	7,80
Cl^2Ca	156	126	109	231	296	116	90	77	168	218

Betrachten wir zunächst das Produkt $CaCl^2$, so zeigt sich, daß (unter Annahme einer vollständigen Cl-Dissoziation) das Ca nicht quantitativ ionisiert sein kann, da das Produkt nicht denselben, sondern im Serum einen höheren Wert zeigt, als in der Außenlösung. Zugleich aber besteht die auffallende Tatsache, daß trotz der starken Verschiedenheiten im Bicarbonat- und Ca-Gehalt der einzelnen Versuche die Differenz der Produkte, in Prozenten des Serumproduktes ausgedrückt, nahezu die gleiche ist.

Sie beträgt für

C.

I	26	Proz.
II	28	„
III	29	„
IV	27	„
V	26	„

entsprechend ist die Differenz der Ca-Werte, in Prozenten des Serumkalkes ausgedrückt, ein innerhalb der Fehlergrenzen konstanter Wert.

Er beträgt für

I	39 Proz.
II	43 „
III	44 „
IV	41 „
V	41 „

Mit der *Rona*schen Formel läßt sich dieses Verhalten nicht vereinbaren, denn betrachten wir die Versuche III, IV und V, so könnte in Versuch III auch bei einem Bicarbonatgehalt von 33 Proz. das Calcium nicht mehr quantitativ dissoziiert sein, und es müßte eine Vermehrung des Ca zu undissoziiertem $Ca(HCO_3)_2$ führen, das sich gleichmäßig zwischen Serum und Dialysat verteilen würde. In Wirklichkeit findet sich aber das Ca in demselben Verhältnis, wie in den Ca-ärmeren Lösungen.

Es wird aber dann verständlich, wenn wir annehmen, daß das Ca im Dialysat quantitativ ionisiert sei. Der höhere Wert des Produktes Ca $\times$ Cl^2 im Serum erklärt sich dann dadurch, daß neben dem ionisierten Ca eine undialysable, undissoziierte Ca-Eiweißverbindung besteht. Die Größe des ionisierten Serums Ca läßt sich dann folgendermaßen berechnen:

$$Ca^{++}\text{-Serum} = \frac{Ca^{++} \cdot Cl^2_{\text{Dial.}}}{Cl^2_{\text{Serum}}} .$$

Die Differenz mit dem beobachteten Werte ergibt die Ca-Eiweißverbindung, deren Betrag den Werten der Reihe C entsprechen muß. Mit anderen Worten würde das besagen, daß bei der Reaktion p_H etwa 7,9 die Eiweißcalciumverbindung zur ionisierten Ca-Verbindung in einem konstanten Verhältnis von 28 : 72 steht. Diese Konstanz ist nur dann verständlich, wenn es sich nicht um eine komplexe, sondern um eine leicht dissoziierende Ca-Eiweißverbindung handelt. Dafür spricht 1. die leichte Fällbarkeit durch Oxalat; 2. daß, wie *Siegfried* festgestellt hat, das Ca imstande ist, mit Aminosäuren undissoziierte Verbindungen einzugehen, wobei es an die Carboxylgruppe gebunden wird. Sehr wahrscheinlich befindet sich das Eiweiß-Ca im Serum in derselben Bindung. Auch würden die Ergebnisse *Monds* (12) bei dieser Vorstellung verständlich, der bei Zusatz von $CaCl_2$ zum Serum eine Zunahme der $H^{\cdot}$-Konzentration auf der alkalischen Seite vom isoelektrischen Punkt beobachtete, denn die Zunahme der absoluten Größe der Ca-Eiweißverbindung bei $CaCl_2$-Zusatz muß zur Ausschaltung alkalischer Valenzen und damit zur Säuerung führen.

Es müßte dann bei zunehmender Säuerung zunehmend Ca aus dieser Verbindung abdissoziieren, wie es auch die folgenden Versuche zeigen:

	Serum			Dialysat		
	I	II	III	I	II	III
Cl . . .	122	122	138	135	136	154
Ca . . .	9,9	9,9	9,7	7,2	7,4	7,2
HCO_3 .	58,0	61,0	51,5	—	—	61,4
E . . .	7,2	7,4	7,0	—	—	—
p_H . .	—	—	—	7,48	7,38	7,38
Cl^2Ca .	150	147	185	132	137	171

Die Differenz beträgt jetzt nur noch 12, 7 und 8 Proz., d. h. das Produkt hat sich durch Vermehrung des ionisierten Anteils den Anforderungen einer vollkommenen Ionisation (Gleichheit der Produkte) genähert.

Bei noch stärkerer Säuerung wird das Produkt gleich bzw. im Dialysat etwas höher, da bisher im Serum das Eiweißvolumen nicht berücksichtigt wurde.

	Serum		Dialysat	
	I	II	I	II
Cl . . .	139	137	157	157
Ca . . .	14,6	15,9	11,8	12,9
E . . .	8,5	8,5	—	—
p_H . . .	—	—	6,9	6,86
Cl^2Ca . .	282	298	294	318

Diese Versuche zeigen, daß die Ca-Eiweißverbindung unter dem Einfluß von Säuren tatsächlich leicht dissoziiert, daß es sich wahrscheinlich um Kalksalzverbindungen der freien Carboxylgruppe handelt.

Es bleibt noch zu fragen, ob neben dem unvermeidlich schwankenden p_H-Werten, die innerhalb der Versuchsgrenzen kleine Fehler bedingen müssen, auch die Unterschiede der Eiweißkonzentration von Bedeutung für die Einstellung des Donnangleichgewichts sind.

Die Klärung der Frage wurde auf folgendem Wege gesucht: In offenen Dialysierhülsen wurde nach 24 Stunden das Gleichgewicht bei beliebiger p_H bestimmt, dann ohne Veränderung der p_H ein Teil Serum dem Dialysat zugesetzt und abermals nach 24 Stunden das Gleichgewicht bestimmt, dieser Prozeß nochmals wiederholt. Von vier in ihrem Resultat sich entsprechenden Versuchen sei der folgende zitiert:

	Serum			Dialysat		
	I	II	III	I	I + Serum II	+ Serum III
Cl . . .	107	107	107	125	117	109
Ca . . .	10,1	10,2	9,3	5,2	6,9	9,0
E . . .	7,5	6,6	6,6	—	1,3	3,9
Cl^2Ca .	115	117	106	81	94	107

Wir finden also den Ausgleich des Produktes schon, wenn der Eiweißgehalt der Dialysatlösung etwas über der Hälfte des Serumeiweißwertes liegt. Die Eiweißkörper sind demnach wahrscheinlich, wie dies auch zu erwarten war, mit zunehmender Verdünnung stärker ionisiert. Die kleinen Versuchsschwankungen können also keine meßbare Verschiebung des Donnangleichgewichts bedingen.

Die bisher gewonnenen Ergebnisse sagen zwar aus, daß im Serum mehr Ca ionisiert sei als der *Rona*schen Formel entspricht, aber die Ionisierungsgrenze haben wir noch nicht kennengelernt.

Diese läßt sich auf einfache Weise bestimmen: Zugesetzte Ca-Mengen verteilen sich, wie oben gezeigt wurde, bei bekannter p_H in einem charakteristischen Verhältnis zwischen Serum und Dialysat, solange sie ionisiert sind. Von dem Moment an, wo sich undissoziiertes $Ca(HCO_3)_2$ bildet, muß die Zunahme im Serum und Dialysat gleichmäßig vor sich gehen. Es läßt sich also die Grenze der Ionisierbarkeit auch ohne die Bildung von Bodenkörper bestimmen.

	Serum			Dialysat		
	I	II	III	I	II	III
Cl . . .	115	118	118	129	130	129
Ca · . .	8,2	11,1	12,2	4,6	6,8	8,2
HCO_3 .	49,0	50,0	48,0	52,8	53,0	53,0
E . . .	7,0	6,7	6,4	—	—	—
p_H . . .	—	—	—	8,05	8,11	8,13

Wir sehen, daß die Calciummenge zwischen Versuch II und III im Serum um 1,1 mg, im Dialysat um 1,4 mg, d. h. gleichmäßig (innerhalb der Fehlergrenzen) zunimmt. Auch im Versuch II ist nicht mehr aller Kalk ionisiert; bezeichnet man den molekularen Anteil mit x, so läßt sich der maximal ionisierbare Anteil berechnen

$$8{,}2 : 4{,}6 = (11{,}1 - x) : (6{,}8 - x),$$
$$x = 1{,}3 \text{ mg},$$

entsprechend für Versuch III $x = 3{,}1$ mg.

Es läßt sich aus

$$\frac{[Ca^{++}] \cdot [HCO_3^-]}{H^+} = K$$

die neue Konstante im Dialysat berechnen, wobei Ca und HCO_3 in Molen ausgedrückt sind.

$$K_{II} = 3716,$$
$$K_{III} = 3447.$$

Entsprechend ist der nächste Versuch behandelt.

	Serum			Dialysat		
	I	II	III	I	II	III
Cl . . .	131	129	131	148	147	148
Ca . . .	10,2	14,0	15,0	5,8	8,3	9,5
HCO_3 .	30,9	33,8	29,0	39,5	40,4	38,5
E . . .	7,3	7,4	7,1	—	—	—
p_H . . .	—	—	—	8,05	8,00	7,95

Auch hier in der dritten Reihe eine gleichmäßige Zunahme: im Serum 1 mg, im Dialysat 1,2 mg.

X II = 0,8 mg K II = 3797
X III = 2,3 mg K III = 3096

	Serum		Dialysat	
	I	II	I	II
Cl . . .	121	121	139	138
Ca . . .	13,0	18,1	7,9	11,3
HCO_3 .	25,2	25,7	28,1	28,6
E . . .	6,9	7,4	—	—
p_H . . .	—	—	8,08	7,90

X II = 1,4 mg K II = 3727

Die folgenden zwei Versuche bestimmen die Konstante bei etwa alveolarer CO_2-Spannung (durch mehrmaliges Einblasen von Exspirationsluft erzeugt).

	Serum		Dialysat	
	I	II	I	II
Cl . . .	139	146	154	163
Ca . . .	9,7	36,6	7,2	28,8
HCO_3 .	51,5	54,0	61,4	60,0
E . . .	7,0	7,3	—	—
p_H . . .	—	—	7,38	7,40

X II = 6,3 mg K II = 3815

	Serum		Dialysat	
	I	II	I	II
Cl . . .	134	141	152	158
Ca . . .	14,3	24,1	9,3	16,9
HCO_3 .	68,1	68,1	76,2	72,9
E . . .	7,6	7,8	—	—
p_H . . .	—	—	7,68	7,60

X II = 3,9 mg K II = 4270

Da innerhalb der Versuchsgrenzen liegende Fehler der Ca-Bestimmung zu großen Schwankungen der Konstanten führen müssen,

darf das Resultat hinsichtlich der Werte als zufriedenstellend betrachtet werden.

Als Mittelwert würde sich für K bei 18° $K = 3690$ ergeben, also ein Wert, der etwas mehr als das Zehnfache des von *Rona* und *Takahashi* ermittelten beträgt.

Für den Bicarbonatgehalt 67 und die Reaktion 7,4 des Blutplasmas würde sich daraus die maximale Ionisierung mit etwa 19 mg berechnen.

Eine geringe Fehlerquelle der Zusatzmethode besteht darin, daß Elektrolytzusätze die Donnandifferenz verringern, wodurch aber die Konstante nur zu klein werden könnte.

Wir haben also im Serum bei einem Ca-Gehalt unter 20 mg das Ca nur in zwei Formen: als ionisiertes und als Eiweißcalcium.

Die beiden Anteile stehen in einem konstanten, aber von der p_H abhängigen Verhältnis zueinander; bei der Serumreaktion macht der undissoziierte Eiweißkalk etwa 9 Proz. des Gesamt-Ca aus. Berücksichtigen wir das bisher vernachlässigte Volumen der Eiweißkörper mit etwa 8 Proz., so erhöht sich der Anteil des undissoziierten Eiweiß-Ca auf etwa 16 Proz. des Gesamtkalks.

Unter dieser Vorstellung werden die Versuche von *Trendelenburg* und *Goebel* am Froschherzen verständlich, in denen sich nach der Deutung *Heubners* klar zeigte, daß die Ca-Wirkung, falls sie auf Ca-Ionen zu beziehen ist, nicht der *Rona*schen Formel entsprach, sondern von der absoluten Menge des zugeführten Calciums abhing.

Zusammenfassung.

1. An Hand des Donnangleichgewichts kann nachgewiesen werden, daß das Ca im ganzen wesentlich stärker ionisiert ist, als dies sich nach der *Rona*schen Formel errechnet. Bei der Bestimmung der Konstante mit Ca-Zusätzen findet sich ein Wert, der mehr als zehnfach so hoch wie der *Rona*sche ist;

$$K = 3690_{18^0}.$$

2. Bei alkalischer Reaktion ist das Ca in zwei Formen im Serum: als ionisiertes und als undissoziiertes Eiweiß-Ca. Die Größe der Eiweiß-Ca-Verbindung nimmt mit zunehmender Säuerung ab, sie steht in einem für die betreffende Reaktion konstanten Verhältnis zum ionisierten Serumkalk. Für p_H 7,4 beträgt die Ca-Eiweißverbindung etwa 16 Proz. des Gesamtkalks (unter Berücksichtigung des Eiweißvolumens).

3. Kleinere Schwankungen der Serumeiweißkörper bei einem Gehalt von etwa 7 Proz. üben keinen meßbaren Einfluß auf das Donnan-

gleichgewicht aus. In verdünnten Eiweißlösungen sind die Eiweißkörper als erheblich stärker ionisiert anzunehmen.

Die bisher nicht berücksichtigte Beeinflussung der Ca-Ionisierung durch die Serumphosphate soll in weiteren Untersuchungen geklärt werden.

Literatur.

1) Diese Zeitschr. **159**, 1925. — 2) Ebendaselbst **49**, 1913. — 3) Journ. of biol. Chem. **59**, 1922. — 4) Kon. Akad. v. Wetensch. Amsterdam **22**, 1922. — 5) Klin. Wochenschr. 1924, S. 232. — 6) Die Wasserstoffionenkonzentration. — 7) Diese Zeitschr. **150**, 1924. — 8) Ebendaselbst **137**, 1923. — 9) *J. Loeb*, Die Eiweißkörper. — 10) Pflügers Arch. **199**. 1923. — 11) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **89**, 1921. — 12) Pflügers Arch. **200**, 1923.

Verlauf der alkoholischen Zuckerspaltung in Gegenwart von Schwefelwasserstoff und Cyanwasserstoff.

Von

Carl Neuberg und **Genia Perlmann.**

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem).

Die Spaltungen, die bei den Gärungsvorgängen eintreten, unterscheiden sich grundsätzlich von den übrigen enzymatischen Abbauprozessen dadurch, daß die Form der gelösten Bindungen ungleich ist. Die Fermente, die eine Molekülzerkleinerung der Fette, Glykoside, Proteine und von verwandten Stoffe zuwege bringen, gehören zu den Hydrolasen. Ihr Effekt besteht ausnahmslos darin, daß sie Kohlenstoff-Sauerstoff-Brücken oder Kohlenstoff-Stickstoff-Verknüpfungen beseitigen. Bei den Gärungsenzymen läuft die typische Reaktion an der Bindung zwischen Kohlenstoffatomen ab. Soweit die bisherigen Ergebnisse einen Schluß zulassen, dürften an der Betätigung der Hydrolasen Schwermetallkatalysen im allgemeinen keinen Anteil haben. Wir haben versucht, einen Beitrag zu der Frage zu erbringen, ob bei den prinzipiell anders gearteten Gärungserscheinungen solche Metallkatalysen eine Rolle spielen, die man nach der Ansicht *O. Warburgs* durch Überführung des wirksamen Metalls in Komplexverbindungen oder inaktive Formen nachweisen kann.

Zunächst verglichen wir die Einwirkung von Schwefelwasserstoff und Cyanwasserstoff auf den Vorgang der eigentlichen alkoholischen Zuckerspaltung[1]). Im Hinblick auf die vorstehenden früher eingegangenen Arbeiten von *O. Warburg* und *E. Negelein* und im Einvernehmen mit ihnen teilen wir unsere Versuche mit, die sich in gleicher Richtung bewegen und mit anderen Methoden zu ähnlichen Ergebnissen geführt haben.

Wir gehen auf die ziemlich umfangreiche ältere Literatur (*Schönbein*, *Ad. Mayer*, *Fiechter*, *Preyer*, *Buchner* und *Hahn*) über das Verhalten von Schwefelwasserstoff und Cyanwasserstoff bei der alkoholischen Gärung nicht ein und erwähnen von einschlägigen Befunden nur folgende, die aus den letzten Jahren stammen.

---

[1]) Beobachtungen, die sich auf die Essiggärung beziehen, werden bei *C. Neuberg* und *F. Windisch*, Naturwissenschaften, **1925**, angeführt.

Vergärt man Zucker in Anwesenheit von Natriumthiosulfat, so entweicht, wie *C. Neuberg* und *E. Welde*[1]) beschrieben haben, ein Strom von *Schwefelwasserstoffgas* und die Zuckerspaltung vollzieht sich ohne große Störung in Gegenwart dieses als giftig geltenden Gases. Auf den Prozeß der Phosphorylierung durch Hefe, bei dem gleichzeitig eine Vergärung von Zucker stattfindet, übt nach *C. Neuberg* und *M. Kobel*[2]) das *Kaliumcyanid* nur einen verzögernden Einfluß aus; die Umsetzung geht, wenn auch verlangsamt, zu Ende. Die Autoren[2]) haben auf die Bedeutung dieses Umstandes in bezug auf die auch jetzt zu behandelnde Frage nach einem etwaigen Schwermetallcharakter der Zymasewirkung hingewiesen. Natriumpyrophosphat, das ebenfalls stark komplexbildend ist und Eisen zu entionisieren vermag, hebt den mit Gärung verbundenen Vorgang der Phosphorylierung gleichfalls nicht auf[3]).

Gemäß unseren erwähnten Feststellungen durften wir erwarten, daß bei Wahl der gebildeten Menge Weingeist als Indikator keine völlige Unterbrechung der Zuckerspaltung eintreten, sondern eine mit der Menge des angewandten Metallgiftes steigende Verringerung der Alkoholausbeute erfolgen würde.

Um zu sehen, wie Schwefelwasserstoff und Blausäure sich bei der Gärung auswirken, haben wir in Großgärversuchen stets erhebliche Mengen Zuckers zur Vergärung gebracht, den erzeugten Alkohol in Substanz abgeschieden und seine Menge analytisch ermittelt.

A. Schwefelwasserstoffversuche.

Wenngleich der Schwefelwasserstoff zu den Gasen zählt, für welche die Zellwand als durchlässig betrachtet wird, so haben wir außer Versuchen mit frischen Hefen obergärigen und untergärigen Charakters auch Versuche mit zellfreien, nach *v. Lebedew* bereiteten Mazerationssäften angestellt.

Da möglicherweise der Schwefelwasserstoff bei der sauren Reaktion eines normalen Gärgutes anders wirkt als in schwach alkalischem Medium, so haben wir bei einem Teil der Ansätze beträchtliche Mengen Calciumcarbonat ($CaCO_3$: Zucker = 2 : 1 oder 4 : 1) zugegeben. Unter diesen Bedingungen bildet sich, namentlich in Gegenwart von Zucker, nach *Béchamp* alkalisch reagierendes Calciumsulfhydrat.

Während der Gärung treibt die entwickelte Kohlensäure gelösten Schwefelwasserstoff teilweise aus; deshalb wurde der Schwefelwasserstoff in Form von frisch gesättigtem Schwefelwasserstoffwasser portionsweise hinzugefügt. Wir überzeugten uns davon, daß nach Abschluß

[1]) *C. Neuberg* und *E. Welde*, diese Zeitschr. **67**, 111, 1914.
[2]) *C. Neuberg* und *M. Kobel*, ebendaselbst **155**, 499, 1925.
[3]) *Dieselben*, ebendaselbst **160**, 464, 1925.

der Gärung noch Schwefelwasserstoff bzw. Sulfid vorhanden war. Die qualitative Prüfung nahmen wir einfach in der Weise vor, daß eine filtrierte Probe des Gärgutes mit einer verdünnten Lösung von Eisenacetat zusammengebracht wurde. Sie fiel unter den gewählten Versuchsbedingungen stets positiv aus. Der restierende Schwefelwasserstoff wurde quantitativ nach Destillation aus phosphorsaurer Lösung in Form von Cadmiumsulfid bestimmt.

Bei einem Teil der Ansätze haben wir auch in Nachahmung der Versuche von *Neuberg* und *Welde* (l. c.), in denen automatisch aus zugesetztem Thiosulfat Schwefelwasserstoff frei wurde, während der ganzen Vergärungsdauer Schwefelwasserstoff in das Gärgut eingeleitet, so daß dieses dauernd mit H_2S gesättigt gewesen ist.

Die Ermittlung des Alkohols geschah bei den stets vorgenommenen Kontrollversuchen, d. h. bei den sulfidfreien Göransätzen, auf übliche Art: Durch anreichernde Destillation, die zwecks Reinigung des entstandenen Weingeistes mit einer Rektifikation einmal über Natronlauge und einmal über Schwefelsäure verbunden war, wurden so konzentrierte Alkohollösungen (15- bis 20proz.) gewonnen, daß ihre densimetrische Bestimmung fehlerlos ausgeführt werden konnte.

Bei Aufarbeitung jedes Gärgutes, das eine Zufuhr von Schwefelwasserstoff erhalten hatte, wurde eine Reinigung des Alkohols durch Destillation über Kupfersulfat eingeschaltet. Dieses hielt Schwefelwasserstoff vollkommen zurück und lieferte zum Schluß einen Weingeist, der nicht nur frei von H_2S war, sondern auch keine organischen Schwefelverbindungen (von Mercaptancharakter) einschloß. Wohl aber trat in einigen Fällen in dem mit Schwefelwasserstoff behandelten Gärgut eine vermehrte Menge Acetaldehyd auf; hierauf hat uns Herr Dr. *G. Gorr* aufmerksam gemacht, dem wir für eine Kontrolle dieser Versuche zu Dank verpflichtet sind. Die Menge des entwickelten Acetaldehyds war aber so gering, daß seine Gegenwart auf die Genauigkeit der Alkoholbestimmungen keinen in Betracht kommenden Einfluß ausübte.

Die erzielten Ergebnisse sind in der folgenden Übersichtstabelle I vereinigt.

Diese Tabelle lehrt folgendes:

a) Versuche mit frischer Patzenhofer Unterhefe.

Sämtliche Versuche sind so angestellt, daß völlige Ausgärung innerhalb $1^1/_2$ bis 2 Stunden erfolgte. Bei Gegenwart von H_2S war die 4,7- bis 5fache Zeit zur Erreichung dieses Endpunktes nötig.

b) Versuche mit frischer Sinner Oberhefe.

Dieselbe lieferte in $4^1/_2$ Stunden nahezu die theoretische Ausbeute an Alkohol im schwefelwasserstofffreien Ansatz. In derselben Zeit entstanden bei Totalsättigung mit H_2S nur 33 Proz. dieser Weingeist-

Tabelle I.

	Zuckermenge	Wasser ccm	Hefe	H_2S-Wasser bzw. H_2S-Gas	$CaCO_3$ g	Alkohol g	Eisenprobe	Temperatur °C	H_2S-Konzentration	Zeit in Stdn.
1.	10 g Rohrzucker	100	30 g frische Patz. Hefe	—	—	5,25	—	37	—	1½
	10 g „	25	30 g „ „ „	75 ccm in 7 Port.	—	5,23	Positiv	37	Anf. 0,16 Proz., Schl. 0,014 „	7
2.	10 g „	100	25 g „ „ „	—	—	5,24	—	37	—	1½
	10 g „	25	25 g „ „ „	75 ccm in 6 Port.	—	5,22	Positiv	37	Anf. 0,16 Proz., Schl. 0,033 „	7½
3.	10 g „	100	25 g „ „ „	—	—	5,23	—	37	—	1½
	10 g „	25	25 g „ „ „	75 ccm in 6 Port.	20	5,22	Positiv	37	Anf. 0,16 Proz., Schl. 0,034 „	7½
4.	10 g „	100	25 g „ „ „	—	—	5,41	—	37	—	1½
	10 g „	25	25 g „ „ „	75 ccm in 6 Port.	20	5,36	Positiv	37	Anf. 0,16 Proz., Schl. 0,036 „	7½
5.	10 g Glukose	100	25 g „ „ „	—	—	5,24	—	37	—	2
	10 g „	25	25 g „ „ „	75 ccm in 6 Port.	20	5,21	Positiv	37	Anf. 0,16 Proz., Schl. 0,035 „	8
6.	10 g „	100	25 g „ „ „	—	—	5,28	—	37	—	2
	10 g „	25	25 g „ „ „	75 ccm in 6 Port.	20	5,25	Positiv	37	Anf. 0,16 Proz., Schl. 0,034 „	8
7.	5 g „	—	200 ccm Saft	—	—	2,52	—	37	—	3
	5 g „	—	200 ccm „	80 ccm in 7 Port.	20	3,50	Positiv	37	Anf. 0,06 Proz., Schl. 0,026 „	10½
8.	10 g „	100	25 g frische Patz. Hefe	—	—	5,38	—	20	—	2½
	10 g „	100	25 g „ „ „	2½ Std. eingeleitet	—	2,87	Positiv	20	Gesättigt	2½
	—	100	25 g „ „ „	—	—	0,27	—	—	—	—
9.	20 g „	200	50 g Sinner Hefe	—	—	9,25	—	20	—	4½
	20 g „	200	50 g „ „	4½ Std. eingeleitet	—	3,05	Positiv	20	Gesättigt	4½
	20 g „	200	50 g „ „	4½ Std. „	40	2,12	Positiv	20	„	4½
	—	200	50 g „ „	—	—	0,31	—	—	—	

menge. Bei Zusatz von Calciumcarbonat, d. h. in Gegenwart von Calciumhydrosulfid, sank die Ausbeute an Alkohol auf 22 Proz. der Theorie.

c) Versuche mit Mazerationssaft aus Unterhefe.

Benutzt wurde ein außerordentlich wirksamer Saft aus ganz frisch getrockneter untergäriger Patzenhofer Bierhefe. Hier wurde derselbe Alkoholertrag auch im Schwefelwasserstoffversuch erzielt, aber in einer dreimal längeren Zeit.

Somit zeigt sich, daß unter den herrschenden Versuchsbedingungen die Vergärung durch Schwefelwasserstoff gehemmt, aber selbst im Schwefelwasserstoffstrom nicht zum Verschwinden gebracht wird.

B. Cyanwasserstoffversuche.

Bei dieser Versuchsserie gelangten obergärige und untergärige Trockenhefen sowie zellfreie Säfte aus Unterhefen zur Anwendung. Die Menge Kaliumcyanid, die zugesetzt wurde, schwankte von n/50 bis n/1000. Auch hier wurden manchmal Zusätze von Calciumcarbonat gemacht, um die Wasserstoffionenkonzentration während der Versuchsdauer möglichst unverändert zu erhalten. Gärschwache Säfte eignen sich nicht, weil schon durch kleine Quantitäten von Kaliumcyanid ihre zuckerspaltende Kraft aufgehoben wird.

Blausäure kann als schwache Säure durch das bei der Gärung entwickelte Kohlendioxyd frei gemacht werden und sich verflüchtigen; wir haben sie tatsächlich in der Absorptionsflüssigkeit der Gärverschlüsse nachgewiesen; deshalb haben wir geprüft, ob nach Vollendung des Versuchs im Gärgut noch Cyanwasserstoff zugegen war. Wir führten den positiven Nachweis folgendermaßen: Das Gärgut wurde unter Zugabe von Weinsäure destilliert. Mit dem Alkohol geht der Cyanwasserstoff über; bei Rektifikation des Destillats über Ferrosulfat + Natronlauge bleibt im flüssigen Destillationsrückstande Ferrocyankalium zurück, das in Gestalt von Berlinerblau ohne weiteres zu erkennen war.

Die Bestimmung des Alkohols geschah auf die gewohnte Weise. Eine besondere Entfernung von Blausäure erübrigte sich wegen der eingeschalteten Rektifikation über Natronlauge und Eisensalz.

Die Ergebnisse sind in Tabelle II wiedergegeben.

Wie man sieht, ist grundsätzlich der Einfluß des Cyanwasserstoffs dem des Schwefelwasserstoffs vergleichbar. Zucker kann durch Oberhefe auch bei Gegenwart von Kaliumcyanid vollkommen vergoren werden, aber die Zeitdauer ist etwa 10- bis 11mal so groß.

In guter Übereinstimmung hiermit ergab sich in anderen Fällen, daß bei gleichzeitigem Abbruch der zusammengehörigen Versuche etwa

Tabelle II.

	Zuckermenge	Wasser ccm	Hefe bzw. Saft	$CaCO_3$ g	p_H-Konzentration Anfang	p_H-Konzentration Schluß	KCN	Temperatur °C	Alkohol g	Zeit in Stdn.	Bemerkungen
1.	5 g Glucose	—	200 ccm Saft	20	7,0	6,4	0,013 g = n/1000	37	2,50	48 Stunden	
	5 g „	—	200 „ „	—	—	—	—	37	2,52	4 1/2 „	
2.	5 g „	—	200 „ „	20	7,2	—	0,013 g = n/1000	37	Nicht bestimmt		Nicht gegoren
	5 g „	—	200 „ „	20	7,4	—	0,013 g = n/1000	37			
	5 g „	—	200 „ „	20	7,2	—	0,07 g = n/500	37			
	5 g „	—	200 „ „	20	7,2	—	0,13 g = n/100	37			
3.	10 g „	100	10 g Trocken-Oberhefe	—	6,6	5,8	—	35	5,12	Untersucht nach 12 Stunden	
	10 g „	100	10 g „	—	6,6	5,6	0,066 g = n/100	35	0,62		
	—	100	10 g „	—	—	—	0,066 g = n/1000	35	0,14		
4.	5 g „	—	200 ccm Saft	—	—	—	—	37	2,62	4 1/2 Stunden	
	5 g „	—	200 „ „	—	—	—	0,13 g = n/100	37	2,54	48 „	
	—	—	200 „ „	—	—	—	—	—	0,24	—	
5.	10 g „	100	10 g Trocken-Unterhefe	—	6,7	6,3	—	37	2,15	Untersucht nach 18 Stunden	Nicht ausgegoren
	10 g „	100	10 g „	—	6,8	6,2	0,066 g = n/100	37	1,92		
	10 g „	100	10 g „	—	6,8	6,3	0,013 g = n/500	37	1,93		
	—	100	10 g „	—	—	—	0,066 g = n/100	37	0,15		
6.	10 g „	100	10 g „	—	6,8	6,3	—	37	3,75	Untersucht nach 48 Stunden	Nicht ausgegoren
	10 g „	100	10 g „	—	6,6	6,2	0,066 g = n/100	37	3,62		
7.	10 g „	100	10 g Trocken-Oberhefe	—	6,6	5,4	—	32	5,12	Nach 5 Stunden	
	10 g „	100	10 g „	—	6,6	5,2	0,066 g = n/100	32	4,42	Nach 49 Stunden	
	—	100	10 g „	—	—	—	0,066 g = n/100	32	0,15		
8.	10 g „	100	10 g Trocken-Unterhefe	—	6,7	6,3	—	37	3,28	Nach 48 Stunden	Nicht ausgegoren
	10 g „	100	10 g „	—	6,8	6,2	0,13 g = n/50	37	3,28		
	—	100	10 g „	—	—	—	0,066 g = n/100	37	0,15		

der 12. Teil Alkohol entstanden war. Man muß bei solchen Versuchen berücksichtigen, daß die Hefen Alkohol einschließen[1]) bzw. durch Selbstgärung liefern.

In einigen Fällen erhielt man deshalb kein klares Bild, weil auch in den cyanidfreien Ansätzen nicht aller Zucker von der benutzten Menge der zur Verfügung stehenden Trockenunterhefen verbraucht wurde. Es konnte somit der Zeitpunkt der Ausgärung nicht ermittelt werden: in den geprüften großen Intervallen war ein Ausgleich eingetreten.

Schwefelwasserstoff und Cyanwasserstoff hemmen ganz deutlich die Wirkung der Zymase. Sie vernichten jedoch das Ferment nicht; denn bei hinreichender Ausdehnung der Vergärungszeit wird auch in Gegenwart der beiden Gifte mit der gleichen Hefenmenge der gleiche Vergärungsgrad erreicht[2]) Ob die Schädigung am eigentlichen Hauptträger der Fermentwirkung oder an begleitenden Hilfsstoffen ansetzt, ist unentschieden. Es bleibt die Berechtigung des früher, insbesondere auch hinsichtlich der Blausäure, ausgesprochenen Gedankens[3]) zu prüfen, daß die Gifte auf die natürlichen Aktivatoren der Gärung einwirken können. Wenn diese etwa durch eine Reaktion mit Schwefelwasserstoff oder Cyanwasserstoff mit Beschlag belegt werden, so muß zu ihrer Neubildung Zeit erforderlich sein, d. h. der Gärungsvorgang verlangsamt werden.

---

[1]) *C. Neuberg* und *J. Kerb*, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. **1**, 120, 1912; *F. Hayduck*, Jahrb. d. Vereins der Spiritusfabrikanten in Deutschland, **14**, 33, 1914.

[2]) Vgl. hierzu die Beobachtungen von *C. Wehmer* (diese Zeitschr. **92**, 366, 1918), daß Blausäure die Keimung von Samen verzögert, aber auf die Dauer keineswegs unterbindet; vgl. weiter die Befunde von *M. E. Robinson* (Biochem. Journ. **18**, 260, 1924) sowie namentlich von *W. Lipschitz* (H. **146**, 7, 1925).

[3]) *C. Neuberg*, diese Zeitschr. **88**, 155, 1918.

Berichtigungen

zur Arbeit: Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Nr. 80. Die Wirkungsweise der spezifischen Diuretica nebst Beiträgen zur Lehre von der Harnabsonderung. Von *George M. Curtis*. Diese Zeitschr. **168**, H. 1/3, S. 109, 1925.

S. 122: In der Figurenbeschreibung zu Abb. 3, vorletztes Wort „Rohrzuckerlösung" statt „Kochsalzlösung".

S. 123: 4. Zeile von unten: „0,564°" statt „0,599°".

S. 138: An Stelle der Übersichtstabelle VII die nachfolgende Übersichtstabelle VII.

Übersichtstabelle VII.

Nr. des Versuchs	Perioden	Harnstoff Proz.	Annähernde Verhältniszahl	Achloride als Mol. NaCl berechnet Proz.	Annähernde Verhältniszahl	Harnmenge ccm	Annähernde Verhältniszahl
5	6	0,144	3	0,010	3	15,3	1
	7	0,102	2	0,007	2	16,2	1
6	5	0,301	3	0,050	5	6,8	1
	6	0,109	1	0,058	6	11,2	2
8	4	0,258	3	0,033	1	5,0	1
	5	0,171	2	0,034	1	10,6	2
9	5	0,600	2	0,223	4	2,1	1
	6	0,306	1	0,055	1	5,0	2
10	7	0,426	4	0,029	5	3,4	3
	8	0,306	3	0,006	1	2,3	2
12	8	0,330	1	0,091	9	8,5	1
	9	0,348	1	0,074	7	18,7	2
13	9	0,282	1	0,036	1	3,0	1
	10	0,288	1	0,036	1	13,0	4
14	10	0,210	7	0,042	4	3,6	1
	11	0,180	6	0,055	5	3,9	1
15	10	0,402	4	0,036	3	5,4	1
	11	0,550	5	0,053	5	5,8	1
16	5	0,780	2	0,094	2	4,1	4
	6	0,334	1	0,058	1	5,1	5
17	9	0,912	9	0,081		1,1	1
	10	0,798	8			1,9	2
25	5	0,270	11	0,042	8	11,4	11
	6	0,024	1	0,005	1	13,6	13
	6	0,024	1	0,005	1	13,6	13
	7	0,024	1	0,012	2	11,3	11
27	7	0,132	2	0,018	3	11,9	2
	8	0,078	1	0,024	4	6,0	1
28	5	0,216	7	0,016	5	11,0	11
	6	0,186	6	0,003	1	9,0	9

S. 139: Zeile 6 von oben: „3 : 2“ statt „2 : 1“.

Übersichtstabelle VIII zu ersetzen durch nachfolgende Übersichtstabelle VIII.

Übersichtstabelle VIII.

Nr. des Versuchs	Harnmenge ccm	Harnstoffkonzentration Proz.	Nr. des Versuchs	Harnmenge ccm	Harnstoffkonzentration Proz.
2	19,52	0,3561	14	6,1	0,207
4	12,5	0,282	15	15,0	0,190
5	16,2	0,102	16	5,1	0,334
6	11,2	0,109	12	18,7	0,348
8	10,6	0,171	25	13,6	0,024
9	5,0	0,306	27	11,9	0,132
10	3,4	0,426	28	11,0	0,216
13	13,0	0,288			

Zeile 3 von unten: „0,356“ statt „0,912“.

Zeile 2 von unten: „Versuch 28“ statt „Versuch 18“.

Unterste Zeile: „0,216“ statt „0,048“ und „25‘, statt „17“.

S. 140. Zeile 1 von oben: „13,6“ statt „11,9“.

Zeile 2 von oben: „0,024“ statt „0,13“.

S. 141, im Hauptpunkt 3. 6. Zeile: „*keine*“ statt „feine“.

Ein Laboratoriumsapparat zur schonenden Schnelltrocknung leicht zersetzlicher Lösungen.

Von

W. Gäde, Karlsruhe, und W. Straub, München.

(Eingegangen am 10. September 1925.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Luft, Wasser, Wärme und Zeit sind die Hauptfaktoren der Zerstörung labiler Substanzen. Zersetzliche Lösungen in den geschützten Trockenzustand überzuführen, bleibt ein wichtiges und noch unbefriedigend gelöstes Problem des präparativen Arbeitens. Wenn man von recht komplizierten Apparaturen absieht, ist der Vakuumexsikkator immer noch das meist verwandte Gerät zur Trocknung und Konservierung.

Er hat den Nachteil einer geringen Kapazität und eines recht langsamen Arbeitstempos.

Wir haben vor mehreren Jahren einen Apparat konstruiert, der alle Schwierigkeiten des Vakuumexsikkators vermeidet und sich in den Händen des einen von uns (*Straub*) seither so bewährt hat, daß wir uns entschlossen haben, ihn der Allgemeinheit zugänglich zu machen[1]).

Die Vakuumexsikkatoren arbeiten mit der optimalen Geschwindigkeit, wenn in denselben der Partialdruck der noch vorhandenen Luft klein ist gegenüber dem Partialdruck der Dämpfe des Lösungsmittels.

Aber auch dann ist der Arbeitsgeschwindigkeit rasch ein Ziel gesetzt. In dem Maße, als die Flüssigkeit verdunstet und in die Schwefelsäure eingeht, kühlt sich die Lösung ab und erwärmt sich die Schwefelsäure. Das Absorptionsvermögen der Schwefelsäure sinkt mit der Erwärmung und der Dampfdruck der zu trocknenden Lösung mit deren Abkühlung, man hat schließlich Eis über heißer Schwefelsäure und praktischen Stillstand des Trocknungsprozesses.

Hier setzen unsere Verbesserungen ein, die vor allem bezweckten, während des Trocknens die Säure zu kühlen und die zu trocknende

[1]) Der Apparat D. R.-P. Nr. 411 947 wird von der Firma F. & M. Lautenschläger in München, Lindwurmstr. 29/31, hergestellt und als alleiniger Vertriebsstelle in den Handel gebracht.

Substanz zu erhitzen, mit der Besonderheit, daß die Erhitzung in einem sehr guten Vakuum erfolgt und die feuchten Flüssigkeitsteilchen nur einen kurzen Moment trifft.

Die schematische Abbildung erklärt das Prinzip besser als Worte. Abbildung *A* ist der Verdampfraum, der in ein erhitztes Wasserbad *a* versenkt ist, *B* der die Wasserdämpfe aufnehmende und zur Hälfte mit Schwefelsäure gefüllte Kondensierraum, er taucht ganz in Kühlwasser *b* ein. Die Verbindung der beiden Räume besorgt ein mit Düse *E* versehenes U-Rohr.

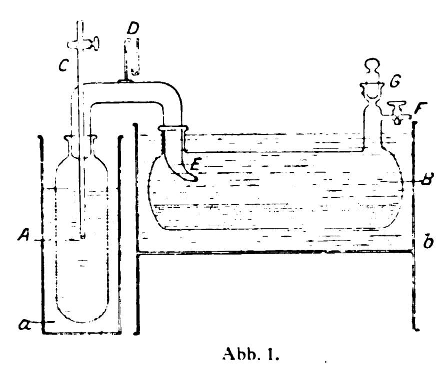


Abb. 1.

Zum Betrieb wird das ganze System durch Ansetzen einer gut wirkenden Luftpumpe bei *F* auf etwa 1 mm Hg evakuiert, die Evakuierung ist an dem Manometer *D* zu kontrollieren. Ist das Vakuum erreicht und das ganze System dicht, so kann der Hahn *F* geschlossen und die Pumpe abgesetzt werden.

Läßt man nun durch das Zuflußrohr *C* die zu trocknende Lösung zufließen, so zerstiebt sie beim Austreten in den Verdampfraum, kleinste Tröpfchen werden an die heiße Wand geschleudert, wo sie momentan verdampfen, die Dämpfe treten durch das U-Rohr mit solcher Vehemenz in den Kondensierraum, daß die Schwefelsäure in stärkste Wallung gerät und sich dadurch automatisch selbst mischt.

Die Temperatur des Heizbades kann je nach der gewünschten Geschwindigkeit des Trocknens zwischen 50 und 80^0 schwanken, die Temperatur innerhalb des Verdampfraumes beträgt dann etwa $+6^0$. Es kann vorkommen, daß die zuströmende Flüssigkeit an der Mündung der Zuflußdüse *C* als Eiszapfen gefriert, was sehr sinnfällig zeigt, daß im Innern des Verdampfers ganz ungefährliche Temperaturen für das Trockengut herrschen.

Das Kühlbad wird durch die Wasserleitung auf etwa 10 bis 12^0 gehalten, eventuell kann noch ein Klumpen Eis eingelegt werden, im allgemeinen genügt aber die Wasserkühlung völlig.

Der ganze Trocknungsprozeß wird durch Beobachtung des Manometers *D* kontrolliert. Unter der Voraussetzung, daß die zu trocknende Flüssigkeit kein in Schwefelsäure nicht absorbierbares Gas enthält, ist das Spiel des Manometers ausschließlich von der jeweils herrschenden Tension des Wasserdampfes bedingt. Es soll nicht unter 10 mm Hg sinken, wenn nicht das Gleichgewicht zwischen der Verdunstungs- und der Absorptionsgeschwindigkeit gestört werden soll. Wenn alle Flüssig-

keit verdunstet ist, sinkt das Manometer wieder auf seine ursprüngliche Stellung von etwa 1 mm Hg.

Enthält die Flüssigkeit viel absorbiertes Gas, so kommt man nicht mehr mit einmaligem Evakuieren aus, vielmehr muß die Pumpe dauernd laufen. Der Apparat wird als Einlitertyp hergestellt[1]), d. h. mit einer Kapazität von 1 Liter konzentrierter Schwefelsäure von $D = 1{,}839$ (95 Proz. H_2SO_4). Wenn die Säure bei sehr guter Kühlung bis zur Erschöpfung ausgenutzt wird, nimmt sie 1100 ccm Wasser auf. Im allgemeinen wird man sich mit 1000 ccm begnügen. Die ausgenutzte Säure wird vom Halse *G* aus mit Heber entfernt.

Wesentlich für den glatten Trocknungsverlauf ist eine rasch arbeitende Luftpumpe. Die dem Apparat beigegebene und erprobte Ölpumpe evakuiert das ganze System in einer halben Minute bis zur Arbeitsfähigkeit. Die üblichen Wasserstrahlpumpen sind ungeeignet.

Das Trockengut fällt in dem Gefäß *A* meist zu Boden, nur sehr hygroskopische klebrige Stoffe bleiben auch in trockenem Zustande an den Wänden haften und werden dann leicht mit einer langstieligen Schaufel abgekratzt; hier kann unter Umständen ein Verlust von 0,2 g entstehen.

Die Arbeitsgeschwindigkeit des Apparats ist eine große. Bei frischer Füllung werden 100 ccm Lösung in 5 Minuten verdampft, später kann es für das gleiche Quantum 10 Minuten dauern. Die Natur der zu trocknenden Flüssigkeit ist nicht ohne Bedeutung, solche mit großer Oberflächenspannung trocknen rascher wie ceteris paribus solche mit kleiner.

Der entscheidende Vorzug des Apparats liegt aber in der Schonung der zu trocknenden Substanz, speziell zu diesem Zwecke wurde er von uns konstruiert. Seine Leistungsfähigkeit mag dadurch charakterisiert sein, daß Pyrogallolkali sich unzersetzt trocknen läßt, daß getrockneter Hefepreßsaft seine Zymase wirksam erhält, getrocknete Milch nach Monaten bei Wiederauflösung nicht nur gerinnungsfähig ist, sondern auch die Schardingerreaktion wie Frischmilch gibt, schließlich konnte auch das äußerst labile, zur Wassermannreaktion nötige Komplement des Meerschweinchenserums bis zur einjährigen Haltbarkeit getrocknet werden usw.

---

[1]) Sämtliche Schliffe sind Normalschliffe, bei Bruch können die einzelnen Teile ohne weiteres passend nachbezogen werden.

Die Sichtbarmachung von Albumin-Molekelaggregaten und anderen subvisiblen Gebilden.

Von

H. Bechhold und **L. Villa.**

(Aus dem Institut für Kolloidforschung, Frankfurt a. M.).

(Eingegangen am 12. September 1925.)

Das Ultramikroskop ermöglichte es, subvisible Gebilde bis herunter zu 10 $\mu\mu$ dem Auge sichtbar zu machen. Die Anwendung beschränkte sich jedoch auf hydrophobe Kolloide, also hauptsächlich auf anorganische Gebilde: kolloide Metalle, Metalloxyde usw.; bei den hydrophilen Gebilden versagte das Instrument. Für biologische und biochemische Fragen kommt jedoch den hydrophilen Gebilden eine überragende Bedeutung zu. Zu ihnen gehören Hauptgebiete der Biokolloide (Proteine, Kohlehydrate) sowie Enzyme, Toxine, Immunkörper; in dieses Gebiet fallen auch die Bausteine der Zelle, das Protoplasma und vor allem die große Zahl der subvisiblen Mikroorganismen.

Solche Gebilde ließen zwar im Ultramikroskop zuweilen gewisse helle Teilchen erkennen, doch entsprach die Zahl derselben nicht im entferntesten der Quantität von Teilchen, die man auf Grund ihrer Konzentration voraussetzen mußte: man darf somit annehmen, daß in den meisten Fällen das Gesehene nicht dem entsprach, was man sehen wollte!

Durch Mikrophotographie vermittelst ultravioletter Strahlen ist es möglich, Gebilde bis herunter zu 75 $\mu\mu$ abzubilden[1]). Hier aber ist die Grenze. Zwischen 75 $\mu\mu$ und 1 bis 2 $\mu\mu$, der Dimension großer Biokolloidmolekeln (Proteine) (vgl. S. 258), liegt das Gebiet der primitivsten lebenden Gebilde. Es schien uns deshalb eine besonders dankbare Aufgabe, diese subvisiblen Gebilde dem Auge sichtbar zu machen, wenn wir auch auf die Wiedergabe der Form unter Umständen verzichten mußten.

Zur Lösung der Aufgabe stellten wir *folgende Arbeitshypothese* auf:

Wir nahmen an, daß es möglich ist, aus der Lösung eines Edelmetallsalzes an Proteine oder proteinartige Gebilde Metall zu ad-

---

[1]) *J. E. Barnard*, Lancet, Juli 1925.

sorbieren. Eine solche Verbindung konnte sich im Ultramikroskop optisch wohl kaum bemerkbar machen. Wenn es jedoch gelang, das Edelmetall zu reduzieren, so war zu erwarten, daß wir eine „Pseudomorphose" unseres Objekts erhielten, bestehend aus kleinsten Metallteilchen, die im Ultramikroskop wahrnehmbar sein könnten. Allerdings machten wir dabei gleich von vornherein die Voraussetzung, daß auch die Metallmenge, welche wir durch Reduktion erhielten, noch immer so gering sein würde, daß sie dem Auge verborgen bliebe, und wir gingen von vornherein mit dem Gedanken um, daß es möglich sein müsse, diese Metallkeime in ähnlicher Weise zu verstärken, wie der Photograph sein zu schwaches Negativ verstärkt, indem er ein Metall, z. B. Quecksilber, anlagert.

Ohne auf die Um- und Irrwege einzugehen, welche schließlich uns auf die richtige Bahn führten, wollen wir hier kurz skizzieren, in welcher Weise wir zur Realisierung unseres Arbeitsplanes kamen:

Unter den Edelmetallen erschien uns am geeignetsten das Gold, weil seine Chlorverbindung, im Gegensatz zu Silber, löslich ist. Ferner haben bisher unveröffentlichte Versuche im „Institut für Kolloidforschung" wahrscheinlich gemacht, daß dreiwertige Metalle bzw. Metallverbindungen feste Verbindungen mit Proteinen eingehen, daß es also möglich ist, überschüssiges, nicht an das Protein gebundenes Goldsalz restlos durch Ultıafiltration zu entfernen, ohne die Bindung Protein-Gold aufzuheben. Allerdings ist diese Gold-Proteinverbindung so fest, daß unsere Versuche, in ihr das Gold durch Reduktionsmittel, wie z. B. Formaldehyd oder Tannin in alkalischer Lösung, sowie mit Wasserstoffsuperoxyd zu metallischem Gold zu reduzieren, fehlschlugen. Ein einfacher Trick führte zu befriedigenden Resultaten:

Wir brachten die mit Gold behandelte und dann ausgewaschene Substanz auf den Objektträger und *verbrannten* sie. Bei einfachen Gebilden, bei Proteinen, wie z. B. Albumin, ist dann noch nichts im Ultramikroskop zu sehen. Bringt man auf den Objektträger nun ein geeignetes Verstärkungsmittel, so treten Lichtpunkte auf.

Eine besondere Schwierigkeit bot die *Verstärkung*. Entscheidend für den *Erfolg* mußte es sein, ob es uns gelang, die *Bildung neuer Keime* aus der Verstärkerlösung zu *vermeiden* und zu erreichen, daß das aus der Verstärkerlösung sich ausscheidende Metall sich lediglich an die vorhandenen Goldkeime anlagert.

Durch die Versuche von *Hiege*[1]) aus dem *Zsigmondy*schen Institut wissen wir, daß es möglich ist, bei der Reduktion einer Goldchloridlösung die Keimbildung auf ein Minimum herabzusetzen, wenn man

---

[1]) *K. Hiege*, Zeitschr. f. anorg. Chem. **91**, 145 bis 185.

dem Reduktionsgemisch (Goldchlorid + Kaliumcarbonat + Formaldehyd) vor Zusatz des Formaldehyds Ferricyankalium zugibt. Indem wir diese Mischung als *Verstärkerlösung* benutzten, gelang es uns in der Tat, die vorhandenen Goldkeime unter Vermeidung neuer Keimbildung so zu verstärken, daß sie *im Ultramikroskop wahrnehmbar* wurden.

Um die Realisierbarkeit unserer Überlegungen festzustellen, erprobten wir unser Verfahren zuerst an einem auch mit dem gewöhnlichen Mikroskop sichtbaren Organismus, dem *Bacterium coli*, dann als Extrem der entgegengesetzten Seite an einer Lösung von reinem *Eieralbumin*, um dann auf Grund der gewonnenen Erkenntnisse zu Gebilden weiterzuschreiten, die zwischen diesen beiden Grenzfällen liegen.

Experimenteller Teil.

Vergoldung und Verstärkung von Bacterium coli.

Eine 24stündige Agarkultur von Bacterium coli wurde in Wasser aufgeschwemmt, kräftig geschüttelt und in einem *Ultrafiltertiegel nach Bechhold-König*[1]), der mit 3proz. Ultrafiltermembran (naß) überzogen war, mit doppelt destilliertem Wasser gewaschen, um alle feiner dispersen Verunreinigungen, insbesondere Abbauprodukte zu entfernen. Die gewaschene Bacteriumcoli-Aufschwemmung wurde in 5 bis 6 ccm Wasser aufgenommen; von dieser wurden 2 ccm versetzt mit 3 ccm Goldchloridlösung mit einem Gehalt von 1,63 g Au im Liter (entsprechend 2,51 g $AuCl_3$ oder 3,49 g $AuCl_4H$, $4 H_2O$ im Liter) + 3,3 ccm 0,18 n Kaliumcarbonatlösung. Die Flüssigkeit blieb etwa 1 Stunde lang bei Zimmertemperatur stehen, alsdann wurde sie wieder auf einem 3proz. Ultrafilter so lange ausgewaschen, bis im Filtrat kein Gold mehr nachweisbar war. Der Goldnachweis wurde in folgender Weise geführt: Zu etwa 5 ccm der Waschflüssigkeit wurden 3 bis 4 Tropfen einer gesättigten Zinnchloridlösung gesetzt und weniger als ein Tropfen konzentrierte Schwefelsäure beigefügt. Der entstehende Niederschlag ist bei Abwesenheit von Gold rein weiß; Gegenwart von Gold bedingt eine gelbliche, später rot werdende Färbung. Zur Entfernung alles ionogenen Goldes war meist eine 12- bis 15malige Waschung erforderlich. Die gewaschenen Bakterien wurden auf einen gewöhnlichen sauberen Objektträger mit Platinöse ausgestrichen und an der Luft getrocknet. Alsdann wurden sie im Bunsenbrenner auf dem Objektträger verbrannt. Das Verbrennen erfolgte in ähnlicher Weise wie der Bakteriologe seine Bakterien auf dem Objektträger vor der Färbung trocknet. In folgenden Punkten unterscheidet sich jedoch unsere *Verbrennungsmethode* von der Trockenmethode des Bakteriologen: a) Die Glasseite mit den Bakterien ist unten; b) das Zeitintervall beim Durchziehen durch die Flamme ist größer, um in Anbetracht der bedeutenden Erhitzung ein Springen des Objektträgers zu vermeiden; c) das Durchziehen durch die Flamme erfolgte etwa 100mal.

Betrachtet man ein in dieser Weise behandeltes *un*vergoldetes Kolipräparat, so sieht man im Dunkelfeld ein sehr blasses, weißliches Gerüst

[1]) Vgl. *Bechhold* und *Gutlohn*, Neue Ultrafiltergeräte, Zeitschr. f. angew. Chem. 1924, S. 494 bis 497.

von Kolibakterien, die *auffallend klein* sind; im Hellfeld sind sie fast unsichtbar. Das in eben beschriebener Weise *vergoldete* Bacterium coli unterscheidet sich von dem unvergoldeten nicht in der Größe, sondern im Dunkelfeld *lediglich in der größeren Leuchtkraft*; die *Farbe* ist nicht mehr blaßweiß, sondern gelbgrün. Das übrige Feld zeigt keinerlei leuchtende Teilchen, vorausgesetzt, daß die Bakterien gut gewaschen sind. Im Hellfeld sind sie als sehr kleine hellgraue Gebilde zu erkennen, die ihre Form vollkommen beibehalten haben.

Die Verstärkung.

Der Objektträger mit den vergoldeten und veraschten Bakterien wurde in ein schmales Glas getaucht, welches folgende Lösung enthielt:

20 ccm doppelt destilliertes Wasser,
0,5 „ Goldchloridlösung (1,63 g Au im Liter),
0,6 „ 0,18 n Kaliumcarbonat (12,4 g K_2CO_3 im Liter),
0,24 „ 0,001 n Ferricyankalium[1]) [0,11 g $K_3Fe(CN)_6$ im Liter].

Die Lösung mit dem Objektträger wird auf einem Wasserbad auf 90° erwärmt (um Zeitverlust zu vermeiden, kann man auch die vorher auf 90° erwärmten Lösungen miteinander mischen) und nun setzt man zu der 90° warmen Lösung 0,8 ccm Formaldehyd einer 0,3 prom. Formaldehydlösung (35 bis 40 Proz.). Nach etwa 5 Minuten langem Verweilen in der warmen Lösung wird der Objektträger herausgenommen, mit destilliertem Wasser einige Male abgespült und an der Luft bei Zimmertemperatur getrocknet.

Bringt man nun den Objektträger unter das Ultramikroskop — zur Immersion benutzten wir stets beiderseitig Glycerin (Objektiv X, Zeiss 3 mm, Okular 18 Komp., Kardioid-Kondensor, elektrische Bogenlampe) — so sieht man im Dunkelfeld *helleuchtend in stärkster gelber Strahlung* die Bakterien etwa von doppelter bis dreifacher Größe wie die unverstärkten Bakterien, also etwa $^1/_2$ mal so groß wie die natürlichen Bakterien. Im Hellfeld mit gewöhnlicher Immersion sind sie sichtbar als grauschwarze, coliförmige Gebilde von etwa halber Größe wie die gewöhnlichen Bakterien. Auch nach der Verstärkung ist das Dunkelfeld frei von fremden leuchtenden Teilchen.

Versuche mit anderen Bakterien wie z. B. Paratyphus und Staphylokokken gaben ähnliche Resultate. Die Geißeln waren bei Paratyphus nicht sichtbar. Wir schreiben dies zunächst der starken Strahlenwirkung zu, welche vielleicht die Geißeln überstrahlt. Auf gewisse Unterschiede in der Wirkung der Vergoldung bei verschiedenen Bakterien behalten wir uns vor, bei anderer Gelegenheit zurückzukommen.

Die Sichtbarmachung von Albuminmolekularaggregaten.

Nachdem wir die Brauchbarkeit der Methode an Bakterien erprobt hatten, wandten wir dieselbe auch auf Albuminlösungen an.

Für diese Untersuchung war größte Sorgfalt im Arbeiten erforderlich; wir halten es deshalb für geboten, einige methodische Vorbemerkungen vorauszuschicken.

---

[1]) Wir wählten eine etwas höhere Konzentration, um jede Möglichkeit einer spontanen Keimbildung zu verhindern, die bei der *Hiege*schen Konzentration nach etwa ½ Stunde auftrat.

1. Die *Gefäße.* Als Gefäße wurden lediglich solche aus Jenaer Glas benutzt, die je nach Größe 1/4 bis 1/2 Stunde in Wasserdampf ausgedämpft waren. Das gleiche gilt von den benutzten Pipetten.

2. Das *Wasser* war stets doppelt destilliert durch einen Kühler aus Jenaer Glas, der doppelt ausgedämpft war. Das Wasser erwies sich als optisch leer.

3. Die *Objektträger* wurden stets in Chromschwefelsäure gereinigt, mit doppelt destilliertem Wasser gespült und, wenn nötig, mit japanischem Reispapier abgewischt.

4. Die *Lösungen* wurden vor Benutzung stets auf optische Leere geprüft.

5. Die *Ultrafiltration.* Hierzu wurden die Ultrafiltertiegel nach *Bechhold-König* benutzt. Die *Herstellung der Ultrafiltermembran* erfolgte in nachstehender Weise:

Die Ultrafiltertiegel wurden in Art der Goochtiegel auf eine „Glastulpe" mit Gummidichtung auf eine Saugflasche aufgesetzt. Der Tiegel wurde mit einer 7proz. Eisessigkollodiumlösung gefüllt[1]), 30 Sekunden lang durch die Wasserstrahlpumpe angesaugt, dann wurde Luft in die Saugflasche gelassen, der Tiegel wurde abgehoben und die Eisessigkollodiumlösung unter ständigem Drehen des Tiegels in die Vorratsflasche zurückgegossen. Wenn sich nur noch wenig Tropfen ablösten, wurde der Tiegel mit einem Ruck in Wasser getaucht, wodurch die Membran koagulierte. Nach 1 Stunde kann man den Rest der Essigsäure durch Wasser, dem man eventuell eine Spur Ammoniak zusetzt, auswaschen und vollkommen von Essigsäure befreien. Nach wiederholtem Auswaschen mit reinem Wasser ist alsdann der Tiegel gebrauchsfertig[2]).

6. Das *Albumin.* Das Albumin war hergestellt aus Eieralbumin, welches durch Vorreinigung vermittelst Elektroultrafiltration[3]) von der Hauptmenge der Globuline und Elektrolyte befreit war. Die Schlußreinigung war vorgenommen durch wiederholtes Auswaschen vermittelst Ultrafiltration in den beschriebenen Ultrafiltergeräten aus Porzellanerde. Das Albumin war elektrolytfrei und bildet eine vollkommen wasserklare, schwach gelbliche Lösung, die mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung keine Spur einer Trübung gibt, also globulinfrei ist.

Ausführung der Versuche.

1 ccm einer 3proz. Albuminlösung wurde versetzt mit 2 ccm 0,01 n Goldchloridlösung + 2,4 ccm 0,18 n Kaliumcarbonatlösung. Diese Mischung wurde nach 1 Stunde auf ein 7proz. Ultrafilter (vgl. Vorbemerkung 5)

---

[1]) Auf 10 g Kollodiumwolle 2,5 g wasserfreies Kaliumcarbonat, gelöst in 90 Teilen Eisessig. Dies bezeichnen wir als 10proz. Eisessigkollodiumlösung. Zur Herstellung einer 7proz. Lösung wird dieselbe mit dem entsprechenden Volumen Eisessig verdünnt. — Über Ultrafiltergeräte nach *Bechhold-König* und Ultrafiltration vgl. Zeitschr. f. angew. Chem. **1924**, S. 494. — Die Geräte nebst Zubehör werden geliefert von der Staatl. Porzellanmanufaktur, Berlin, Wegelystr. 1.

[2]) Wir bezeichnen diese Methode der Herstellung einer Ultrafiltermembran als die „Trockenimprägnation"; bei unseren späteren Untersuchungen haben wir meist die *Naß*imprägnation verwendet, aus Gründen, deren Darlegung hier zu weit führen würde.

[3]) Vgl. *Bechhold* und *Rosenberg*, diese Zeitschr. **157**, 85ff.

gebracht und so lange ausgewaschen, bis im Filtrat kein Gold mehr nachweisbar war. Der Goldnachweis erfolgte in der vorher beschriebenen Weise. Das Filtrat durfte keine Spur Albumin enthalten (Nachweis vermittelst der Tannin- und Biuretreaktion). Nach fünf- bis sechsmaligem Auswaschen verschwand die Goldreaktion, nachher wurde nochmals zehnmal ausgewaschen. Das Auswaschen erfolgte in der Weise, daß das Volumen niemals auf weniger als 1 ccm eingeengt wurde und alsdann der Tiegel annähernd aufgefüllt wurde. Zum Auswaschen wurden jeweils etwa 200 ccm Wasser verbraucht. Zum Schluß wurde der Tiegelinhalt auf ein Volumen gebracht, welches 1 Prom. Albumin entsprach.

Von dieser Lösung des vergoldeten Albumins wurden eine Reihe weiterer Verdünnungen hergestellt, und zwar 10^{-3} bis 10^{-11}. Vermittelst einer Blutpipette wurden je 25 cmm der jeweiligen Lösung auf einen Objektträger gebracht, auf dem vermittelst eines Fettstiftes ein Quadrat von 1 cm Seitenlänge abgegrenzt war. In einigen Fällen ergaben sich Mißstände, indem Fettstiftteilchen sich mit der Flüssigkeit mischten und Störungen auftraten. Deshalb machten wir in späteren Fällen zwei parellele Striche in 12 mm Abstand, brachten den Tropfen genau in die Mitte zwischen den beiden Strichen und ließen auslaufen. Der Tropfen breitete sich alsdann aus und gab eine Flüssigkeitsscheibe von 1 cm Durchmesser $\pm$ 1 mm. Die *Eintrocknung* und *Verbrennung* erfolgte wie bei Bacterium coli, ebenso die *Verstärkung*. Die gebrannten und *un*verstärkten Objektträger waren im Ultramikroskop *vollkommen dunkel*, wiesen keinerlei Goldteilchen auf. Als *Kontrolle* dienten Objektträger, die mit *Wasser* betropft und in gleicher Weise behandelt waren.

Die *verstärkten Albuminpräparate* wiesen auf dem Objektträger *makroskopisch* bereits gewisse Kennzeichen auf, die uns für die Folge wertvolle Hinweise gaben: Bis zu einer Albuminverdünnung von 10^{-3} bis 10^{-6} sah man mit dem bloßen Auge einen graublauen Spiegel mit Goldreflex. Bei größerer Verdünnung verschwand dieser Goldspiegel. Je höher die Albuminkonzentration, um so intensiver war der Spiegel. Im *Ultramikroskop* erwies sich die höchste Konzentration 10^{-3} als ein dichtes Gewirr zahlloser leuchtender Teilchen, die teils größere kompakte Massen bildeten, teilweise sich als Primärteilchen erwiesen und in ihrer Gesamtheit ein leuchtendes Mosaik bildeten. In dem Maße, wie die Verdünnung zunimmt, lösen sich die einzelnen Teilchen voneinander los, die Zahl der Primärteilchen nimmt zu, die der Sekundärteilchen vermindert sich, aber erst bei einer Konzentration von 10^{-8} ist das Gesichtsfeld in eine solche Zahl von Teilchen zerfallen, daß sich dieselben *zählen lassen*. Das Licht dieser Einzelteilchen ist hellgelb bis weißlichgelb, zuweilen auch blauweiß, stets aber ziemlich schwach leuchtend. Aus der nicht ganz gleichmäßigen Leuchtkraft ergibt sich, daß die Teilchen nicht alle von gleicher Größe sind. Von einer Konzentration von 10^{-8} ab wurde die Teilchenzahl gezählt. Aus jedem Objektträger wurden 80 bis 100 quadratische Felder ausgezählt, die durch *Ehrlich*sche Okularblenden abgeblendet waren. Jedes quadratische Feld hatte einen Flächeninhalt von $2{,}3 \cdot 10^{-6}$ cm². Daraus ergibt sich für die Gesamtfläche von 0,785 cm² eine Durchschnittszahl von $3{,}4 \cdot 10^5$ Feldern.

Aus den dreimal wiederholten Versuchen und Zählungen haben wir diejenige Tabelle herausgegriffen, welche keine Störungen durch zufällige Verunreinigungen aufweist. Die Durchrechnung der übrigen hier nicht wiedergegebenen Tabellen weist analoge Resultate auf und führt angenähert

Gehalt an Albumin	Makroskopisch	Durchschnittliche Teilchenzahl in einem quadratischen Feld
10^{-3}	starker Spiegel	∞
10^{-4}	„ „	∞
10^{-5}	schwacher „	∞
10^{-6}	sehr schw. „	∞
10^{-7}	kein „	noch ∞ aber weniger
10^{-8}	„ „	> 100 (unsicher)
10^{-9}	„ „	14,4
$5 \cdot 10^{-9}$	„ „	6,8
10^{-10}	„ „	1,5
10^{-11}	„ „	Teilchen nur noch in einzelnen Feldern, viele Felder leer
$10^{-\infty}$ (Kontrolle reines Wasser)	„ „	0

zu den gleichen Daten. Bemerkenswert ist in obiger Tabelle, daß die *Teilchenzahl* der Größenordnung nach *proportional der Verdünnung abnimmt.*

Bevor wir zur Auswertung dieser Zahlen schreiten, sei noch folgendes über den Vorgang der *Verstärkung* bei den Albuminversuchen angeführt:

Es zeigte sich, daß mit der Dauer des Verweilens des Objektträgers in der Verstärkerlösung die Zahl der im Ultramikroskop sichtbaren Teilchen sich vermehrt; nach 5 Minuten ist ein Maximum erreicht, und dann findet keine Zunahme in der Zahl der sichtbar werdenden Teilchen mehr statt, auch bei längerem Verweilen (bis zu 30 Minuten) nicht, trotzdem die Verstärkerlösung in bedeutendem Überschuß ist. Wir beobachteten beispielsweise nach

0 Minuten	0 Teilchen
2 „ 30 Sekunden	2,1 „
5 „	6,8 „
15 „	6,7 „
30 „	6,5 „

Dies erklären wir uns in der Weise, daß durch das Verstärken im Laufe der ersten 5 Minuten immer mehr Teilchen die Sichtbarkeitsschwelle erreichen, daß alsdann alle Teilchen diese Grenze erreicht haben und eher eine Abnahme durch Überstrahlung erfolgt (d. h., dadurch, daß die größeren Teilchen immer heller werden, verschwinden die schwach leuchtenden Teilchen für das Auge). Selbstverständlich ist die Verstärkungszeit in Abhängigkeit von dem zu verstärkenden Objekt verschieden, bei groben Objekten, wie z. B. Bakterien, mußte eine länger dauernde Verstärkung zur Wirkung kommen.

Ergebnis.

Unter der Annahme, daß die Albuminmolekel 2 Atome Schwefel enthält (weil die Hälfte des Schwefels leicht abspaltbar ist), gelangt man zu einem Minimalmolekulargewicht von ∼ 6400. Dies wäre das Minimalmolekulargewicht für die *chemische Molekel* des Albumins.

Aus *physikalischen* Daten ergeben sich folgende Molekular- oder Molekularaggregatgewichte für Albumin:

aus Gefrierpunktserniedrigung (*Sabanejew* und *Alexandrow*[1]) 14000
„ Diffusionskoeffizient [*Herzog*[2])] 17000
„ Osmotischer Druck (*Sörensen*) 34000
„ „ „ [*W. Biltz*[3])] . . . . 50000—57000

Welches Molekularaggregatgewicht ergibt sich nun aus den von uns gefundenen Zahlen?

Auf unserem Objektträger befinden sich $0{,}025 \cdot 10^{-9}$ g Albumin $= 2{,}5 \cdot 10^{-11}$ g. Jedes durchgezählte Feld hat eine Fläche von $2{,}3 \cdot 10^{-6}$ qcm. Der Kreis enthält $3{,}4 \cdot 10^{5}$ Felder. Somit befinden sich auf einem Felde $0{,}74 \cdot 10^{-16}$ g Albumin. Auf einem Felde sind 14 Teilchen. Somit wiegt ein Teilchen $\backsim 5 \cdot 10^{-18}$ g. Die *Loschmidt*sche Zahl sagt aus, daß 1 Grammolekel irgend einer Substanz aus $6 \cdot 10^{23}$ Einzelmolekeln besteht. Wir gelangen somit zu einem Molekularaggregatgewicht von $5 \cdot 10^{-18} \cdot 6 \cdot 10^{23} = 3 \cdot 10^{6}$ = etwa 3 Millionen. Das heißt, *jeder der von uns gesehenen* und gezählten *Lichtpunkte* besteht *aus etwa 50 physikalischen Albuminmolekeln.*

Über die Bedeutung des Unterschieds zwischen chemischem Molekulargewicht und physikalischem Molekularaggregatgewicht ist man sich heute noch im unklaren. Es ist sehr zweifelhaft, ob der Unterschied auf Unzulänglichkeit unserer Methoden oder auf normalen physikalischen Assoziationen beruht, wie wir sie auch bei niedermolekularen Stoffen in gewissen Lösungsmitteln kennen. Nicht zweifelhaft scheint uns, daß die von uns gesehenen Lichtpunkte keine physikalischen Molekeln sind. Man könnte einwenden, daß wir wegen Lichtschwäche nicht alle Lichtpunkte sehen: je mehr Lichtpunkte wir zählen, desto mehr würde sich die von uns errechnete Zahl dem nach anderen Methoden gefundenen Molekularaggregatgewicht nähern. Dies ist uns nicht wahrscheinlich, da laut S. 256 trotz überschüssiger Verstärkerlösung die Teilchenzahl nicht zunahm. Wahrscheinlicher ist uns, daß durch den Überschuß an $AuCl_3$ bei der Vergoldung bereits eine gewisse Aggregation eintritt; es ist ja bekannt, daß dreiwertige Kationen besonders stark flocken.

Die Forschungen der letzten Jahre über den *Abstand der Atome in der Molekel* gestatten nun auch, eine rechnerische Überlegung anzu-

---

[1]) *Sabanejew* und *Alexandrow*, Zeitschr. f. phys. Chem. **9**, 88, 1892.
[2]) Diese Zeitschr. **2**, 172, 1908.
[3]) Zeitschr. f. phys. Chem. **91**, 705ff., 1916.

stellen über die wahrscheinliche Dimension der von uns untersuchten Substanz: Nehmen wir in unserem Falle als durchschnittlichen Abstand[1]) zweier Atome 0,2 $\mu\mu$ an, so besitzt eine Molekel, welche im Zentrum, in den Oktaederecken und in der Mitte der acht sphärischen Dreiecke (über den Oktaederflächen) je ein Atom trägt, 15 Atome. Diese Molekel von 15 Atomen hat einen Durchmesser von 0,4 $\mu\mu$. Verdoppeln wir den Durchmesser auf 0,8 $\mu\mu$, so kommen wir auf der Oberfläche zu 14^2 Atomen = 196 Atomen; die Molekel von 0,8 $\mu\mu$ Durchmesser enthält also 196 + 15 = 211 Atome. Bei 1,2 $\mu\mu$ Durchmesser gelangen wir zu 2744 Atomen auf der Oberfläche oder 2744 + 211 = 2955 Atomen im Gesamtkörper.

Auf Grund der stöchiometrischen Daten kommen wir für das Albumin zu einem Minimal-Molekulargewicht von rund 6400.

Bei Annahme eines Durchschnittsatomgewichts

von 7 (einschließlich H) ergeben sich $\frac{6400}{7}$ = rund 900 Atome

„ 11 (ohne H) „ „ $\frac{6400}{11}$ = „ 580 „

Aus diesen Überlegungen ergibt sich, daß die *chemische Albuminmolekel*[2]) einen *Minimal*durchmesser von etwa 1 $\mu\mu$ haben muß, Kugelform vorausgesetzt. Größte physikalische Molekeln mit dem maximalen Molekularaggregatgewicht von 57000 hätten danach einen Minimaldurchmesser von rund 2 $\mu\mu$.

Stellen wir die gleiche Überlegung auf Grund der Vorstellung an, daß das Atom eine Kugel von 2 $\mu\mu$ Durchmesser ist und daß wir diese Kugeln in *dichtester Packung* zusammenlagern, so kommen wir zu

---

[1]) Die Unterlagen für die obigen Überlegungen verdanken wir den Mitteilungen der Herren Proff. *W. Kossel*, *Madelung* und Geh. Rat *Sommerfeld*. Danach beträgt im Benzolring der Abstand zweier unmittelbar benachbarter C-Atome 1,45 Å., der Durchmesser des Benzolringes 2,9 Å. (*P. P. Ewald*, Kristalle und Röntgenstrahlen, S. 220, Springer 1923). Nach *Mark*, Zeitschr. f. Phys. **16**, 1 bis 22, 1923, ergeben sich für Harnstoff $CO(NH_2)_2$ folgende Abmessungen: Abstand zweier N-Atome in der Molekel etwa 2 Å., Abstand der Zentren zweier benachbarter Molekeln > 3,98 Å. und < 4,62 Å. Nach *Alex. Müller*, Proc. of the English Chem. Soc., beträgt in aliphatischen Verbindungen die Verlängerung der Kette pro CH_2 etwa 2,0 Å. Ohne allzu großen Fehler dürfen wir somit den durchschnittlichen Abstand der Atome in der Albuminmolekel mit 2 Å. = 0,2 $\mu\mu$ ansetzen, insbesondere, wenn wir die H-Atome nicht berücksichtigen.

[2]) Unter „chemischer Albuminmolekel" ist hier der chemische Gesamtkomplex zu verstehen, nicht das, was *Abderhalden* als „Elementarkomplex" bezeichnet und ein noch weit niedrigeres Molekulargewicht aufweist.

folgenden *Grenzzahlen* bei einem physikalischen Molekularaggregatgewicht von rund 60000

bei tetraedrischer Packung ohne Berücksichtigung von H 3,2 $\mu\mu$
.. kubischer „ mit „ „ H 5 „

Das physikalische Molekularaggregat des Albumins muß somit bei kugeliger Form einen Minimaldurchmesser von 2 bis 5 $\mu\mu$ haben.

Da die Albuminmolekularaggregate, welche wir im Ultramikroskop sahen, aus je rund 50 physikalischen Molekularaggregaten vom Molekularaggregatgewicht 60000 bestehen, so kommen wir auf Grund analoger Überlegungen zu Minimaldimensionen von > 4 und $< 10\,\mu\mu$.

Die experimentelle Nachprüfung dieser rechnerischen Überlegung stößt heute leider noch auf Schwierigkeiten, da die Methoden zur Bestimmung des Durchmessers von Ultrafilterkapillaren sich bei diesen engsten Kapillaren nicht mehr als gültig erweisen.

Zu ähnlichen Größenordnungen gelangt man auf Grund der Berechnung des Radius aus dem Diffusionskoeffizienten für kristallisiertes Eieralbumin[1]), nämlich zu 1,37 $\mu\mu$ (Durchmesser 2,74 $\mu\mu$).

Es ist uns ein Bedürfnis, den Herren Dr. *E. Heymann* und Dr. *H. Karplus* für ihre wertvolle Unterstützung, unseren besten Dank auszusprechen.

Ausblick.

Die von uns unternommene Untersuchung hatte das Ziel, subvisible Gebilde, insbesondere solche, welche *an der Grenze zwischen der organisierten und unorganisierten* Materie stehen, dem Auge sichtbar und vielleicht in begrenztem Maße auch der Form nach abbildbar zu machen. In Fortsetzung dieser hier wiedergegebenen Versuche haben wir uns mit dem *d'Hérelleschen Bakteriophagen* und der *Pockenlymphe* befaßt. Den ersteren konnten wir isolieren und sichtbar machen; von dem Pockenvirus ist uns dies vielleicht ebenfalls gelungen, doch sind diese Versuche noch nicht abgeschlossen. Die eingehende Wiedergabe der Versuche werden wir an anderer Stelle vornehmen (Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten).

Die von uns hier beschriebene Methode ist, wie wir heute schon kennzeichnen dürfen, weitester Anwendung fähig. Sie ermöglicht es, Molekularaggregate von Biokolloiden, insbesondere Proteinen, sichtbar zu machen und ihren Aufbau rechnerisch zu verfolgen. Ähnliches hoffen wir bei Enzymen, Toxinen und Immunkörpern zu erreichen. Ferner bietet sich ein Weg, auch die bisher invisiblen Mikroorganismen,

[1]) *Bechhold*, Kolloide in Biologie und Medizin, 4. Aufl., S. 157.

insbesondere die invisiblen Infektionserreger, dem Auge sichtbar zu machen und auf diese Weise das Bereich der optischen Erkennbarkeit und Meßbarkeit zu erweitern.

Zusammenfassung.

Es wird eine Methode beschrieben, welche es ermöglicht, ***subvisible Gebilde dem Auge sichtbar*** zu machen. Sie besteht darin, daß die betreffende Aufschwemmung oder Lösung (Mikroorganismen, Proteine) mit Goldchlorid behandelt wird; das überschüssige Goldchlorid wird durch Ultrafiltration ausgewaschen. Das an dem Protein oder Mikroorganismus fixierte Gold bleibt beim Verbrennen als Keim oder als Keimgerüst auf dem Objektträger zurück. Behandelt man nun diese Goldkeime mit einer Goldlösung und einem Reduktionsmittel in Gegenwart eines Stoffes, der die Spontankeimbildung verhindert, so werden die ursprünglich fixierten Goldkeime so weit verstärkt, daß sie im Ultramikroskop dem Auge sichtbar werden.

Das Verfahren wurde erprobt 1. an mikroskopisch sichtbaren Organismen (Bacterium coli und Paratyphus), 2. an reiner Eieralbuminlösung.

Durch Auszählung wurde berechnet, daß die einzelnen sichtbaren Teilchen des Eieralbumins je etwa 50 physikalischen Molekularaggregaten des Eieralbumins entsprechen. Auf Grund einer rechnerischen Überlegung kommen wir zu dem Ergebnis, daß die von uns gesehenen Gebilde vor der Verstärkung einen Minimaldurchmesser von > 4 und $< 10\,\mu\mu$ haben dürften.

Untersuchungen über die Eigenschaften und die Entstehung der Lymphe.

IX. Mitteilung[1]): Die Wirkungen der spezifischen Lymphagoga auf den Pfortaderdruck.

Von

Yukujiro Abe.

[Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern (Hallerianum).]

(Eingegangen am 4. September 1925.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

Nach der von *Asher* aufgestellten Theorie ist der wesentliche Faktor bei der Bildung der Lymphe die Organtätigkeit. Die Organtätigkeit ist ein komplizierter Vorgang, in welchem sowohl Prozesse in den Gewebszellen sowie die Kreislaufmechanismen ihren Anteil haben, so daß chemische, physikalisch-chemische und mechanische Momente mitspielen können. Jedoch haben die Untersuchungen von *Asher* und seinen Mitarbeitern gezeigt, daß von allen Faktoren der wesentlichste die eigentliche Tätigkeit der spezifischen Zellen ist. Diese ist es, welche die Auslösung für die Bildung der Lymphe gibt, alles andere ist, mag seine Bedeutung noch so groß sein, nur sekundär. Bekanntlich wird vielfach die Ansicht vertreten, daß der wesentliche Faktor für den Austausch zwischen Blut- und Gewebsflüssigkeit ein mechanischer sei, nämlich die Steigerung des Kapillardrucks. Prinzipiell ist von vornherein gegen diese Vorstellung der Einwand zu erheben, daß die Lymphe, wie es zuerst in meisterhafter Weise *Heidenhain* klargemacht hat, zum Teil nicht aus dem Blute, sondern aus dem Gewebe stammt, wo demnach der Kapillardruck nicht der bestimmende Faktor ist. Aber abgesehen von diesem prinzipiellen Einwand ist noch schwerer wiegend der tatsächliche, der darin besteht, daß dann, wenn rein mechanisch, ohne jede Mitbeteiligung von Permeabilitätsänderungen aus chemischen oder physikalisch-chemischen Gründen der Kapillar-

[1]) Die VIII. Mitteilung in Zeitschr. f. Biol. **56**, 309, 1911.

druck erhöht wird, *kein* Flüssigkeitsaustritt in die Gewebe stattfindet. Dies hat zuletzt mit aller Deutlichkeit *Tani*[1]) im Berner physiologischen Institut gezeigt. Er fand, daß Erhöhung des Blutdrucks durch hohe Aortenabklemmung im Portalgebiet nicht die geringste Veränderung in der Hämoglobinkonzentration des Blutes macht.

Ein Gebiet, wo die Probleme der Lymphbildung von besonderem Interesse sind und wo nach den obwaltenden Bedingungen Gelegenheit gegeben ist, die Entstehung der Lymphe nach den jetzt vorherrschenden Theorien zu untersuchen, ist die Leber. Vom rein physiologischen Gesichtspunkt aus ist wohl die bedeutsamste Tatsache die, daß die sogenannten *Heidenhain*schen Lymphagoga der ersten Klasse ihre ausschließliche Wirkung auf die Leber entfalten. Dementsprechend hat *Asher* den Standpunkt vertreten, daß die *Heidenhain*schen Lymphagoga primär die Lebertätigkeit beeinflussen und damit die vermehrte Lymphbildung auslösen. Auf die mannigfachen Beweise experimenteller und histologischer Natur, die in den früheren Arbeiten des Berner physiologischen Instituts erbracht worden sind, will ich in dieser Mitteilung nicht eingehen, weil ich in einer an diese Mitteilung anschließenden Arbeit einen neuen entscheidenden Beweis für die Beeinflussung der Lebertätigkeit durch die Lymphagoga erbringen werde. Nun ist natürlich versucht worden, die Wirkung der Lymphagoga im Lichte der mechanischen Theorien zu erklären. Im Anfang wollte dies nicht recht gelingen. Die einzige andere Erklärung, die gegeben wurde, war, daß die Permeabilität der Leberkapillaren, die an und für sich schon eine sehr hohe ist, durch die Lymphagoga erhöht wurde. Aber in neuester Zeit wurde eine Entdeckung gemacht, welche die Möglichkeit lieferte, die Wirkungsweise der *Heidenhain*schen Lymphagoga rein mechanisch zu erklären. Diese Entdeckung besteht in dem experimentellen und anatomischen Nachweis von glatten Muskelfasern am Ausgang der Leber an den Lebervenen und der hohen Empfindlichkeit dieses Muskelgewebes gegenüber pharmakologischen Stoffen vom Typus der Schockgifte. Diese Entdeckung gemacht zu haben, ist das Verdienst von *Mautner* und *Pick* und *Arey* und *Simonds*[2]). Namentlich *Mautner* und *Pick* haben zeigen können, daß die wesentlichsten Erscheinungen des Schocks bei gewissen Tieren sich durch die Wirkung des eigenartigen Sperrmechanismus an der Leber erklären lassen. Nehmen wir das Beispiel des Peptons. Falls Pepton eine Kontraktion der Muskelwülste am Ausgang der Leber hervorruft, bewirkt dies eine Stauung in der Leber, erkenntlich an der Anschwellung derselben und

[1]) *J. Tani*, diese Zeitschr. **145**, 190, 1924.
[2]) *H. Mautner* und *E. P. Pick*, diese Zeitschr. **127**, 72, 1922; *Arey* und *Simonds*, Anat. record. **18**, 219, 1920.

an dem stark erhöhten Pfortaderdruck. Die Folge hiervon wird eine so große Entziehung von Blut aus dem Kreislauf sein, daß das Minutenvolumen des Herzens zu gering wird. Natürlich gilt diese Erklärung nur für diejenigen Tiere, bei denen gewisse Schockgifte auf die Leber wirken. Zu diesen Tieren gehört beispielsweise der Hund, während beim Kaninchen die Schockwirkung auf einem anderen Mechanismus beruht. Ganz ähnlich verhält es sich mit der Wirkung der spezifischen Lymphagoga von *Heidenhain*. Dieselben wirken in charakteristischer Weise nur auf den Hund und auf die Katze, nicht aber auf das Kaninchen. Es ist nicht uninteressant, darauf hinzuweisen, daß auch in dem individuellen Verhalten der Tiere gegenüber Schockgiften und Lymphagoga die enge Beziehung zur Leber hervortritt, die ja auch in anderen Erscheinungen sich bemerkbar macht, z. B. in der Hemmung der Gerinnbarkeit des Blutes, auch teilweise in der Beeinflussung des Kohlehydratgehalts der Leber durch Adrenalin. Nur bei denjenigen Tieren, bei denen der Schock auf der Leberwirkung beruht, treten die beiden letztgenannten Erscheinungen mit Sicherheit auf.

Die Tatsache, daß die Schockgifte, die gleichzeitig auch Lymphagoga sind, den Portaldruck erhöhen, eröffneten erneut die Möglichkeit, die vermehrte Bildung von Lymphe, die ja, wie wir gesehen haben, ausschließlich in diesen Fällen in der Leber stattfindet, mit dem gesteigerten Kapillardruck in Beziehung zu setzen. Wenn nun aus der Tatsache des gesteigerten Kapillardrucks in der Leber sofort der Schluß gezogen worden ist, daß hiermit ein neuer Beweis dafür geliefert sei, daß selbst die Wirkung der sogenannten spezifischen Lymphagoga eine Wirkung des gesteigerten Filtrationsdruckes sei, so wird von vornherein der gleiche Fehler begangen, wie er am Anfang der Theorienbildung über die Lymphbildung, damals allerdings berechtigterweise, begangen worden ist, daß man den von der venösen Seite her gesetzten erhöhten Kapillardruck mit einer rein mechanischen Drucksteigerung gleichgesetzt hat, bei welcher nichts anderes geschieht, als nur eine Erhöhung des Druckunterschiedes. Das ist aber gar nicht der Fall, denn eine Drucksteigerung durch venöse Sperrung bedingt eine erhebliche Permeabilitätsänderung der Gefäßwände. Mit Berücksichtigung dieser Tatsache wäre es genau so richtig zu sagen, daß die Schockgifte, insofern sie lymphagog sind, nur durch eine veränderte Permeabilität der Leberkapillaren wirken. Mit einer solchen Permeabilitätsveränderung kann aber auch als Folge ein geänderter Zustand der Leberzellen einhergehen. Man sieht, daß, im Lichte dieser Gedankengänge betrachtet, die Aufdeckung des Sperrmechanismus die Sachlage hinsichtlich der Wirkungsweise der Lymphagoga nicht wesentlich verändert, daß jedenfalls eine Beweisführung zugunsten der rein mechanischen Theorie von vornherein aussichtslos ist.

Jedoch ist es immerhin von Interesse, sobald man sich darüber klar ist, was die Untersuchung nicht leisten kann, nämlich eine Beweisführung zugunsten einer rein mechanischen Theorie, die Beziehungen zwischen *Heidenhain*schen Lymphagoga und dem neu aufgedeckten Sperrmechanismus in der Leber einer experimentellen Prüfung zu unterziehen, vor allem deshalb, weil durchaus nicht gesagt ist, daß alle *Heidenhain*schen Lymphagoga als echte Schockgifte zu bezeichnen sind. Auch wäre zu berücksichtigen, daß die Konzentration, in denen man sie anwendet, zwar lymphagog, aber noch nicht Schock erzeugend ist. Aus diesen Gründen habe ich auf Anregung von Prof. *Asher* in dieser ersten Mitteilung die Wirkung der *Heidenhain*schen Lymphagoga auf den Pfortaderdruck untersucht. In erster Linie habe ich mich des Peptons bedient, welches natürlich gleichzeitig Schockgift ist und lymphagog, sodann des Krebsmuskelextrakts und des Extraktes von Blutegeln. Schließlich habe ich auch Erdbeerextrakt benutzt, welcher gleichfalls lymphagog ist, er ist ja ein charakteristischer Erzeuger von Quaddeln und macht das Blut weniger gerinnbar.

Die von mir benutzte Versuchsanordnung war die folgende:

Da für die von mir benutzten Versuchstiere, Hunde und Katzen, die Versuchsanordnung im wesentlichen die gleiche ist, kann die Besprechung gemeinschaftlich erfolgen. Die Narkose der Tiere war die übliche; es wurde dafür gesorgt, daß die Narkose hinreichend tief, gleichmäßig und ohne wesentliche Änderung des Blutdruckes verlief. Der arterielle Blutdruck wurde in der üblichen Weise aus der Carotis externa mit Hilfe des Quecksilbermanometers bestimmt. Zur Ermittelung des Pfortaderdruckes habe ich mich einer Anordnung bedient, welche, was den messenden Teil anlangt, von *Kronecker* stammt, und die ich für meine Versuchszwecke etwas modifiziert habe. Beim Hund wurde die größte der auffindbaren Milzvenen aufgesucht. Ehe in die Milzvene eine Kanüle eingebunden wurde, wurden sämtliche zur Milz tretenden Arterien abgebunden, damit die Milzschwellung geringer wurde. Nach Einbindung der Glaskanüle in die Vene wurde die Milz mit Gaze eingehüllt und so fixiert, daß während der ganzen Versuchsdauer keine Knickung der Vene eintreten konnte. Die Venenkanüle kommunizierte mit dem Gabelrohr. Der eine Schenkel desselben stand in Verbindung mit einer kalibrierten, zur Messung der Druckhöhe dienenden Bürette. Der andere Schenkel stand in Verbindung mit einer anderen Bürette, die mit Ringerlösung gefüllt war. Diese letzte Bürette diente dazu, von Zeit zu Zeit die Wegsamkeit der Vene zu prüfen und, wenn erforderlich, zur Ausspülung. Die andere Bürette, die eigentliche Meßbürette, war mit 1proz. Natriumcitratlösung in physiologischer Kochsalzlösung gefüllt. Diese Lösung hat sich sehr für die Verhütung der Gerinnung bewährt. Die Messung des venösen Druckes geschah so, daß ein Lineal neben der Meßbürette aufgestellt wurde und fortlaufend die Druckhöhe abgelesen und notiert wurde. Gleichzeitig wurde die auf einem Schleifenkymographion verzeichnete arterielle Druckhöhe notiert. Auf diese Weise erhielt ich in meinen Protokollen nebeneinander den arteriellen und den venösen Druck. Das Wassermanometer für den venösen Druck wurde so eingestellt, daß die Marke Null sich im gleichen Niveau mit der Milzvene befand. Auf diese

Weise entsprach der abgelesene Druck dem wirklichen Druck in der Pfortader.

Bei der Katze war es geratener, einen größeren Zweig der Pfortader als die Milzvene anzuwenden, beispielsweise die Vena mesenteria superia. Sonst war die Versuchsanordnung die gleiche.

Der Krebsmuskelextrakt, dessen ich mich bediente, wurde in 10proz. Lösung in 0,85proz. Kochsalzlösung angewendet. Die Herstellung geschah genau nach den Angaben von *Heidenhain*[1]).

Die angewandte Peptonlösung war 9proz. in 0,85proz. Kochsalzlösung. Ich benutzte Wittepepton. Vor der Injektion wurde die Lösung filtriert.

Der Blutegelextrakt, gleichfalls genau nach *Heidenhain* dargestellt, war 6proz. in 0,85proz. Kochsalzlösung.

Erdbeerextrakt habe ich mir in zwei Formen dargestellt: Der rohe Erdbeerextrakt wurde folgendermaßen vorbereitet: 200 g Erdbeeren wurden in einer Porzellanschale mittels eines Mörsers gut zerrieben. Dann wurden 200 ccm 0,85proz. NaCl-Lösung zugefügt und kräftig mit einem Stabe gerührt. Dann wurde das Gemisch unter ganz leichtem Saugen auf einer Nutsche filtriert. Da das Filtrat sauer reagierte, wurde es mit $NaHCO_3$ neutralisiert. Man braucht ungefähr 3 ccm pro 100 ccm des Filtrats. Damit ist das Präparat fertig.

Gekochter Erdbeerextrakt. Die Herstellung geschah in gleicher Weise wie beim rohen Erdbeerextrakt, nur wurde zuletzt neutralisiertes Filtrat 10 Minuten lang gekocht.

Alle diese Präparate wurden vorgewärmt in die Vena jugularis injiziert. Die Menge der injizierten Lösung war verschieden und ist in meinen Protokollen angegeben.

Im ganzen habe ich sechs gelungene Versuche dargestellt. Alles Wesentliche findet sich in den Protokollen der einzelnen Versuche, die ich am Schlusse meiner Arbeit gebe. Zur besseren Übersicht bringe ich an dieser Stelle eine graphische Darstellung der gesamten Versuche in Kurvenform.

Zunächst seien die Versuche am Hund geschildert. Es ergibt sich, daß sämtliche injizierte Stoffe eine Steigerung des Pfortaderdruckes hervorrufen. Aber diese Steigerung ist sehr verschieden, sie kann groß sein, kann aber auch recht klein sein. Die drei größten Steigerungen in den drei Versuchen betragen 110, 155 und 115 mm Wasser. Die größte Differenz von 155 wurde bei Injektion von 50 ccm Krebsmuskelextrakt gefunden. Auch die Steigerung von 115 mm Wasserdruck in der Pfortader im Versuch 3 wurde durch Injektion von 100 ccm Krebsmuskelextrakt erzielt. Die größte Steigerung im Versuch 1 von 110 mm wurde durch 20 ccm Peptonlösung erzielt. Es fragt sich, ob man diese größten Steigerungen als sehr erhebliche zu betrachten hat. Zum Vergleich werden am besten die bekannten Versuche von *Bayliss* und *Starling*[2]) herangezogen. Die genannten Autoren teilen zwei Versuche

[1]) *R. Heidenhain*, Lehre von der Lymphbildung, Pflügers Arch. **49**, 34, 1891.

[2]) *Bayliss* und *Starling*, Journn. of Physiol. **16**, 159, 1894.

mit hydrämischer Plethora mit. In dem einen Versuch betrug der Pfortaderdruck im normalen Zustande 88 mm einer 25proz. Lösung von Magnesiumsulfat. Nach Injektion von 500 ccm physiologischer Kochsalzlösung war der Pfortaderdruck auf den Maximalwert von 320 mm gestiegen, demnach eine Drucksteigerung von 222 mm. Nach längerer Zeit war der normale Wert noch nicht erreicht, sondern der Pfortaderdruck war immer noch 100 mm über dem normalen. In einem anderen Versuch betrug der normale Pfortaderdruck 77, er erhob sich infolge von Injektion von 350 ccm physiologischer Kochsalzlösung auf 157 mm. Demnach betrug die Drucksteigerung 80 mm. In diesem Versuch war die Drucksteigerung deshalb geringer, weil schon eine Zeit vorher einfache Hydrämie erzeugt worden war. Man erkennt aus dem ersten Experiment von *Bayliss* und *Starling*, daß bei der einfachen hydrä-

1. Versuch. 10h58′ bis 11h56′. (23. Januar 1925.)
Hund, ♂, Körpergewicht 22 kg. Narkose: 2proz. Morphiumlösung 4,5 ccm subkutan + 120 ccm Ätherinhalation.

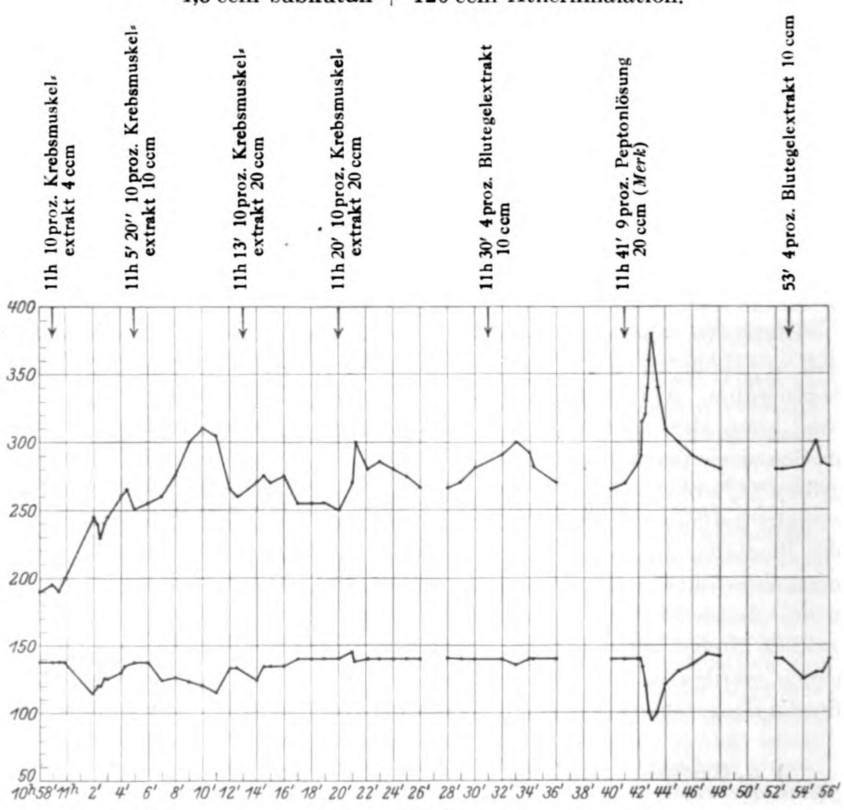


Abb. 1.

2. *Versuch*. $3^h 57'$ bis $6^h 25'$. (27. Januar 1925.) Hund, ♂, Körpergewicht 17,5 kg.
Narkose: 2 proz. Morphiumlösung 4 ccm subkutan + 200 ccm Ätherinhalation.

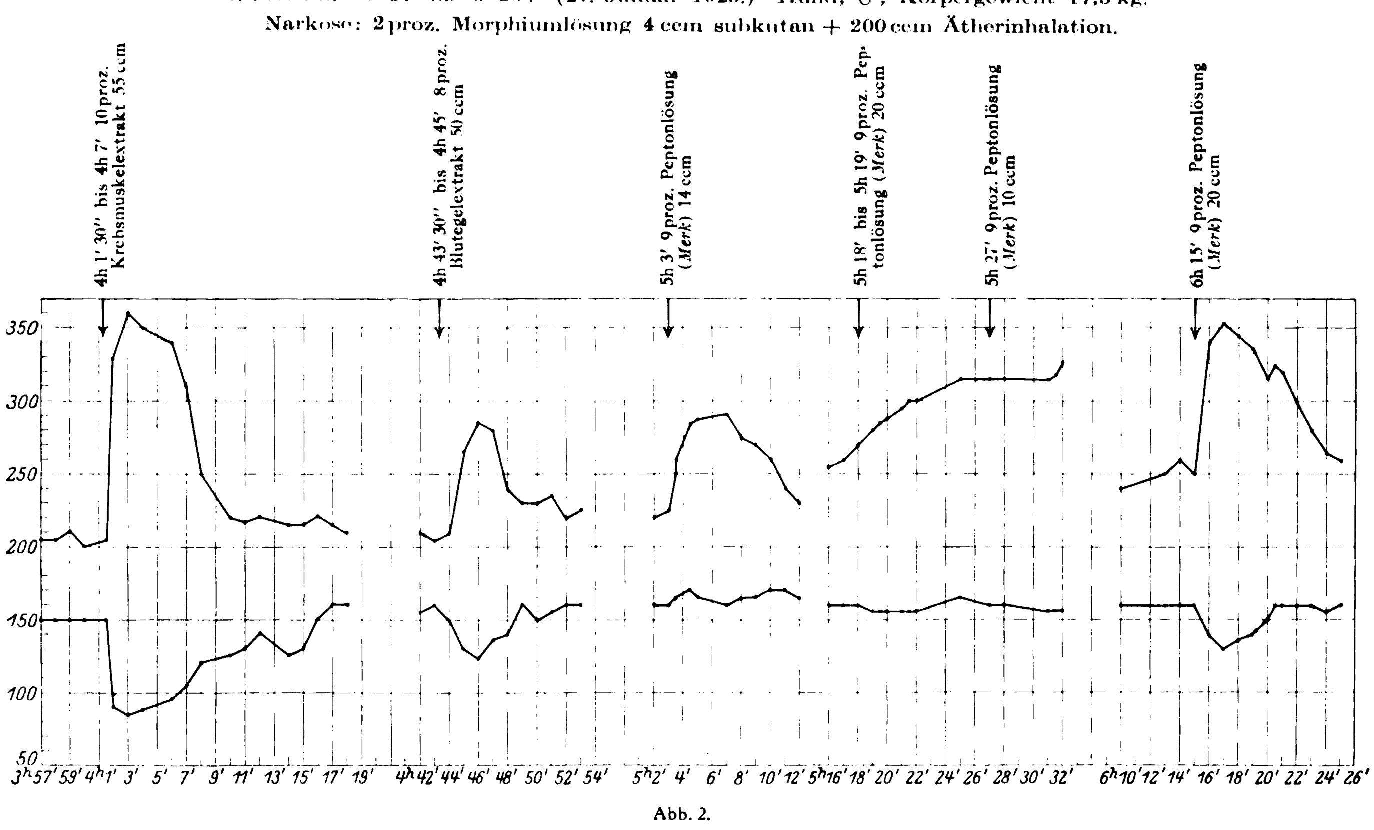


Abb. 2.

3. Versuch. 3h 55′ bis 4h 53′. (3. Februar 1925.)
Hund, ♂, Körpergewicht 20 kg. Narkose: 2 proz. Morphiumlösung 5 ccm subkutan + 150 ccm Ätherinhalation.

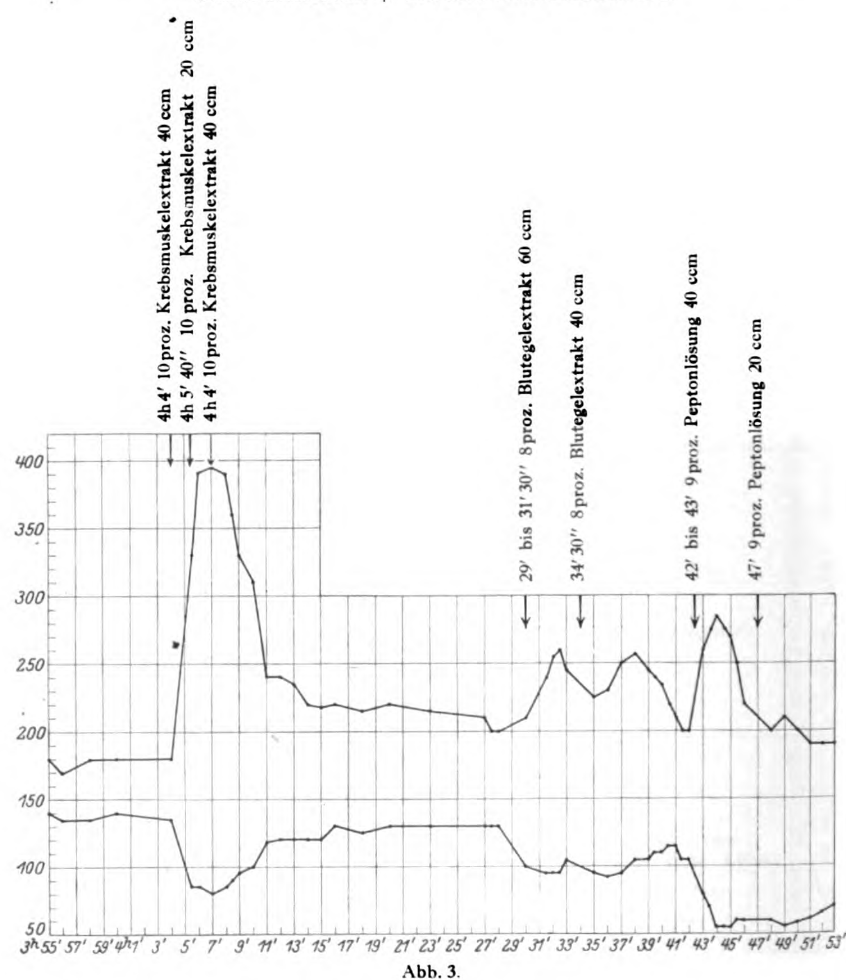


Abb. 3.

mischen Plethora, die doch im wesentlichen von der Schockwirkung verschieden ist, der Pfortaderdruck viel höhere Beträge erreichen kann, als ich sie im Maximum mit übermäßigen Dosen *Heidenhain*scher Lymphagoga erhalten habe.

Entsprechend der Größe der Drucksteigerung in der Pfortader war auch die Senkung des artiellen Blutdrucks. Dort, wo die Drucksteigerung groß war, war auch die artielle Drucksenkung größer. Somit scheint nach der bisherigen Darstellung eine ziemliche Übereinstimmung zwischen den Angaben von *Pick* und seinen Mitarbeitern zu bestehen,

wenigstens in gewissen Fällen, während in anderen Fällen die Drucksteigerungen nicht sehr erhebliche sind. Aber jedenfalls wäre eine Drucksteigerung gegeben, auf welche sich die Anhänger der Filtrationstheorie berufen könnten. Aber bei näherem Zusehen liegen die Verhältnisse doch etwas anders. Dieselben werden am besten aus der von mir gegebenen graphischen Darstellung klar. Es zeigt sich aus derselben, wie auch aus den im Anhang befindlichen genauen einzelnen Versuchsprotokollen, daß diese maximalen Drucksteigerungen nur ganz vorübergehender Natur waren. Die längste Dauer einer maximalen Drucksteigerung betrug 4 Minuten, oft war sie aber kürzer. Sehr bald war der normale oder ein nur leicht übernormaler Pfortaderdruck erreicht, der arterielle Druck wieder zur Norm zurückgekehrt. Nun ist aber die Dauer der Lymphevermehrung nach der Injektion der spezifischen Lymphagoga, wie aus den Versuchen von *Heidenhain* und zahlreichen Versuchen im Berner physiologischen Institut aus früherer Zeit bekannt ist, eine sehr lang andauernde und kann keineswegs aus der sehr kurz dauernden Drucksteigerung in der Leber erklärt werden.

Die kurz dauernden größeren Drucksteigerungen, welche ich bei Injektion von Lymphagoga beobachtet habe, erklären sich nach den Beobachtungen, welche ich während meiner Versuche gemacht habe, meines Erachtens durch eine Beeinflussung der Atmung, die die Form der Bauchpresse annimmt. Sowie die Modifikation der Atmung aufhört, nähert sich der Pfortaderdruck wiederum normalen Werten. Man hätte daran denken können, die Beeinflussung der Atmung durch Kurare aufzuheben. Diese Art der Aufhebung ist aber, wenn es sich um Lymphprobleme handelt, unzulässig, weil Kurare den Vorgang der Lymphbildung tiefgehend beeinflußt, seine Anwendung daher große Fehlerquellen in sich birgt. Die Atmungsausschaltung mit Hilfe von Kurare ist aber angesichts der Tatsache, daß die hohen Drucksteigerungen nur kurzdauernd waren und recht häufig Fälle vorkamen, wo die Drucksteigerungen nur geringfügiger Natur waren, gar nicht erforderlich.

Meine Versuche an Katzen verliefen ganz ähnlich. Die maximalsten Drucksteigerungen des Pfortaderdruckes, welche erhalten wurden, waren in Versuch 4 150 mm, in Versuch 5 70 mm, in Versuch 6 85 mm. In den beiden ersten Fällen handelte es sich um Pepton, im letztgenannten Falle um Krebsmuskelextrakt. Auch bei den Katzen hielt die Drucksteigerung nur wenige Minuten an und kehrte dann zur Norm zurück. Diese kurzen Zeiten der Drucksteigerungen reichen nicht aus, um die langdauernde Lymphbildung nach Injektion der spezifischen Lymphagoga zu erklären.

Eine andere Beobachtung, die ich machen konnte, bestand darin, daß bei wiederholten Injektionen die Veränderungen des Druckes viel geringfügiger wurden. Es findet eine Anpassung in sehr rascher Weise statt.

Betrachte ich insgesamt das Resultat der sechs Versuche, so tritt zwar infolge der Anwendung der spezifischen Lymphagoga eine Steigerung des Druckes der Pfortader auf. Diese Steigerung ist aber von sehr verschiedener Größe. Schon diese Tatsache zeigt, daß kein engster Zusammenhang zwischen dieser Drucksteigerung und der lymphagogen Wirkung besteht. Denn was die Größe der Lymphbildung anbelangt, so zeigen sich nicht diese großen Unterschiede, wie sie sich am Pfortaderdruck haben beobachten lassen. Noch viel wichtiger ist aber, daß, selbst wenn die Drucksteigerungen sehr groß sind, diese Drucksteigerungen flüchtiger Natur sind, zudem hängen sie, wie die Beobachtung der Tiere lehrt, mit Modifikation der Atmung zusammen, so daß es zweifelhaft erscheinen kann, ob wirklich alle Stoffe, die man als Lymphagoga bezeichnet, auf den Sperrmechanismus der Leber spezifisch wirken. Nun können sich die Anhänger der mechanischen Erklärung der Wirkung der Lymphagoga immerhin darauf berufen, daß tatsächlich Drucksteigerung stattfindet, wobei allerdings von ihnen übersehen wird, daß es sich gleichzeitig um eine Permeabilitätsänderung handelt, weil ja die Drucksteigerungen auf venöser Stauung beruhen. Man könnte der mechanischen Kreislaufsänderung mehr Gewicht beimessen, trotz aller Bedenken gegen dieselbe, wenn nicht, wie ich in einer nachfolgenden Arbeit zeigen werde, mit Sicherheit sich beweisen ließe, daß die Lymphagoga die Tätigkeit der Leber beeinflussen. Die unregelmäßigen Veränderungen des Pfortaderdruckes können neben dieser Tatsache nur eine sehr kleine Rolle spielen.

Zusammengefaßt sind die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit die nachfolgenden:

1. Es wird gleichzeitig der Pfortaderdruck und der arterielle Blutdruck bei Hunden und Katzen nach einem etwas modifizierten Verfahren von *Kronecker* bestimmt.

2. Injektion spezifischer Lymphagoga von *Heidenhain* bewirkte in sehr unregelmäßiger Weise bald größere, bald kleinere Drucksteigerungen in der Pfortader mit entsprechender Senkung des arteriellen Blutdruckes.

3. Die Drucksteigerungen in der Pfortader dauerten nur wenige Minuten an und standen auch im Zusammenhang mit der Modifikation der Atmung.

4. Diese letztere Tatsache sowie der Umstand, daß die Pfortaderdrucksteigerung nur kurze Zeit andauerte, während die Lymphebeschleunigung sehr lange andauert, ferner die Unregelmäßigkeit der Drucksteigerung sowie der Umstand, daß die Drucksteigerung mit venöser Stauung einhergeht, sprechen dagegen, daß die Lymphbildung nach Injektion spezifischer Lymphagoga hauptsächlich auf den beobachteten mechanischen Veränderungen des Kreislaufs beruhen könnten.

Protokolle.

1. Versuch. **23. I. 1925.** Versuchstier: **Hund ♂. Körpergewicht 22 kg. Narkose: 4,5 ccm 2 proz. Morphium-hydrochl. Lösung subk. u. Ätherinhalation.**

Zeit	Venöser Druck	Arter. Druck	Injiziertes Präparat
10h58′	190	138	
10 59	195	138	
10 60	190	138	
11 16	190	138	
11 18	200	138	
11 2	235	115	11h 1′ 14 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt
11 2 9″	240	120	
11 2 12	230	120	
11 2 30	240	125	
11 3	245	125	
11 4	260	130	
11 4 10	265	135	
11 5	240	136	
11 5 30	240	136	
11 5 50	240	136	
11 6	250	136	11h 6′ 10 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt
11 7	260	126	
11 8	275	125	
11 9	300	123	
11 10	310	110	
11 11	305	115	
11 12	265	133	
11 12 30	260	133	
11 13	240	133	
11 13 30	230	133	
11 14	260	135	11h 14′ 20 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt
11 14 30	275	135	
11 15	270	135	
11 16	265	135	
11 17	255	140	
11 18	255	140	
11 19	255	140	
11 20	250	140	
11 20	250	140	
11 20 30	250	140	
11 21	260	143	11h 21′ 20 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt
11 21 5	300	139	
11h22′ 5″	280	140	
11 23	285	140	
11 24	280	140	
11 25	275	140	
11 26	265	140	
11 28	265	140	
11 29	270	140	
11 30	282	140	11h 30′ 10 ccm 6proz. Blutegelextrakt
11 32	290	136	
11 33	300	140	
11 34	292	140	
11 34 5	282	140	
11 36	270	140	
11 40	265	140	
11 41	270	140	11h 41′ 20 ccm 9proz. Peptonlösung
11 42	285	140	
11 42 10	290	140	
11 42 12	315	135	
11 42 15	320	120	
11 42 16	330	100	
11 42 17	340	100	
11 42 20	360	97	
11 43	380	95	
11 43 30	340	100	
11 44	310	120	
11 45	300	130	
11 46	290	135	
11 47	285	143	
11 48	280	142	
11 52	280	140	
11 52 30	280	140	
11 53			11h 53′ 10 ccm 4proz. Blutegelextrakt
11 54	282	125	
11 55	300	130	
11 55 30	275	130	
11 56	282	140	

Zusammenfassung.

	1		2		3		4		5		6		7	
	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach
	Injektion von 4 ccm Krebsmuskelextr.		Injektion von 10 ccm Krebsmuskelextr.		Injektion von 20 ccm Krebsmuskelextr.		Injektion von 20 ccm Blutegelextrakt		Injektion von 10 ccm Blutegelextrakt		Injektion von 20 ccm Peptonlösung		Injektion von 10 ccm Blutegelextrakt	
Art. Blutdr.	138	115*	136	110	133	135	143	139	140	136	140	95	140	125
Pfortaderblutdruck	190	265	250	310	260	275	250	300	282	300	270	380	280	300

* In den Kolonnen „Nach Injektion" sind die niedrigsten arteriellen und höchsten venösen Druckwerte, welche beobachtet wurden, angegeben.

2. Versuch.

27. I. 1925. Versuchstier: Hund ♂. Körpergewicht 17,5 kg. Narkose: 4 ccm 2proz. Morphium-hydrochl. Lösung subk. u. Ätherinhalation.

Zeit	Venöser Druck	Arter. Druck	Injiziertes Präparat
3h57′	205	150	
3 58	205	150	
3 59	210	150	
3 60	200	150	
4 1 30″	205	150	4h 1′ 30″ bis 4h 7′ 10proz. Krebsmuskelextrakt, 50 ccm Jugularvene (pro kg 0,32 ccm Pulver)
4 2	330	90	
4 3	360	86	
4 4	350	89	
4 6	340	95	
4 7	310	105	
4 8	250	120	
4 10	220	125	
4 11	216	130	
4 12	220	140	
4 14	215	125	
4 15	215	130	
4 16	220	150	
4 17	215	160	
4 18	210	160	
4 42	210	155	
4 43	205	160	
4 44	210	150	4h 43′ 30″ bis 4h 45′ 8proz. Blutegelextrakt, 50 ccm Jogularvene (pro kg 0,23 ccm Pulver)
4 45	265	130	
4 46	285	124	
4 47	280	137	
4 48	240	140	
4 49	230	160	
4 50	230	150	
4 51	235	155	
4 52	220	160	
4 53	225	160	
5 2	220	160	
5 3	225	160	5h 3′ 14 ccm 9proz. Peptonlösung
5 3 30	250	120	
5 3 40	290	110	
5 4 30	300	135	
5 5	287	155	
5h 7′	290	160	
5 8	275	165	
5 9	270	165	
5 10	260	170	
5 11	240	170	
5 12	230	165	
5 16	255	160	
5 17	260	160	
5 18	270	160	5h 18′ bis 5h 19′ 20 ccm 9proz. Peptonlösung
5 19	280	155	
5 19 30″	300	150	
5 20	288	155	
5 21	295	155	
5 21 30	300	155	
5 22	300	155	
5 25	314	165	
5 27	315	160	5h 27′ 20 ccm 9proz. Peptonlösung
5 28	315	160	
5 31	315	155	
5 31 30	318	155	
5 32	327	155	
6 10	240	160	
6 13	250	160	
6 14	260	160	
6 15	250	160	6h 15′ 20 ccm 9proz. Peptonlösung
6 16	290	140	
6 17	285	130	
6 18	280	136	
6 19	290	140	
6 20	280	150	
6 20 30	280	160	
6 21	290	160	
6 22	280	160	
6 23	280	160	
6 24	265	155	
6 25	260	160	

Zusammenfassung.

	1		2		3		4		5		6	
	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach
	Injektion von 50 ccm Krebsmuskelextr.		Injektion von 50 ccm Blutegelextrakt		Injektion von 14 ccm Peptonlösung		Injektion von 20 ccm Peptonlösung		Injektion von 20 ccm Peptonlösung		Injektion von 20 ccm Peptonlösung	
Arterieller Blutdruck	150	86	160	124	160	110	160	150	165	155	160	130
Pfortader-Blutdruck	205	360	205	285	225	300	260	300	315	327	250	290

3. Versuch.

3. II. 1925. Versuchstier: Hund ♂. Körpergewicht 20 kg. Narkose: 5 ccm 2proz. Morphium-hydrochl. Lösung subk. u. Ätherinhalation.

Zeit	Pfortaderdruck	Arterieller Druck	Injektionspräparat
3h55'	180	140	
3 56	170	135	
3 58	180	135	
4	180	140	
4 4	180	135	4h 4' 40 ccm 10proz.
4 5 30"	330	85	4h 5' 40" 20 ccm 10proz.
4 5 40	390	85	
4 7	395	80	4h 7' 40 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt
4 8	390	85	
4 8 30	360	90	
4 9	330	95	
4 10	310	100	
4 11	240	118	
4 12	240	120	
4 13	235	120	
4 14	220	120	
4 15	218	120	
4 16	220	130	
4 18	215	125	
4 20	220	130	
4 23	215	130	
4 27	210	130	
4 27 30	200	130	
4 28	200	130	
4 29			4h 29'—4h 31'30" 60 ccm 8proz. Blutegelextrakt
4 30	210	100	
4 31 30	240	95	
4 32	255	92	
4 32 30	260	100	

Zeit	Pfortaderdruck	Arterieller Druck	Injektionspräparat
4h33'	245	105	
4 33 30"	225	110	
4 34	220	110	
4 33 30	225	110	
4 34	220	110	4h 34' 30" 40 ccm 8proz. Blutegelextrakt
4 35	225	95	
4 36	230	90	
4 37	250	95	
4 38	257	105	
4 39	245	105	
4 39 30	240	110	
4 40	235	110	
4 40 30	220	115	
4 41	210	115	
4 41 30	200	105	
4 42	200	105	4h 42' bis 4h 43' 40 ccm 9proz. Peptonlösung
4 43	260	80	
4 43 30	275	70	
4 44	285	50	
4 44 30	275	55	
4 45	270	55	
4 45 30	250	60	
4 46	220	60	4h47' 20 ccm 9proz. Peptonlösung
4 48	200	60	
4 49	210	55	
4 50	200	58	
4 51	190	60	
4 52	190	65	
4 53	190	70	

Zusammenfassung.

	1		2		3		4		5	
	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach
	Injektion von 100 ccm Krebsmuskelextrakt		Injektion von 60 ccm Blutegelextrakt		Injektion von 40 ccm Blutegelextrakt		Injektion von 40 ccm Peptonlösung		Injektion von 30 ccm Peptonlösung	
Arterieller Blutdruck	135	80	130	92	110	90	105	50	60	55
Pfortader-Blutdruck	180	395	200	260	220	257	200	285	220	210

4. Versuch.

1. V. 1925. Versuchstier: Katze ♀. Körpergewicht 2,95 kg.
Narkose: Äther + Chloroform + Alkohol-Inhalation.

Zeit	Venöser Druck	Arter. Druck	Injektionspräparat
10h52'	85	120	
10 53	90	115	
10 54	90	120	
10 54 30"	90	118	
10 55			10h 55' 60 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt
10 55 10	95	80	
10 55 30	110	75	
10 55 50	120	50	
10 56	150	65	
10 56 20	130	75	
10 56 30	125	85	
10 56 40	130	88	
10 57	120	104	
10 57 30	110	110	
10 57 40	110	115	
10 59	80	124	
10 59 30	85	120	
10 59 50	80	123	
11			11h 7 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt
11 30	87	124	
11 40	100	120	
11	145	106	
11 30	110	98	
11 2	95	103	
11 2 30	95	120	
11 3	100	130	
11 3 30	105	125	
11 4	100	130	11h 4' 5 ccm 6proz. Blutegelextrakt
11 4 30	105	110	
11 5	105	104	
11 5 30	110	115	
11 6	115	115	
11 8	115	124	
11 8 20	115	124	
11 8 30	110	129	

Zeit	Venöser Druck	Arter. Druck	Injektionspräparat
11h 8'40"	115	122	11h 9' 5 ccm 9proz. Peptonlösung
11 9 20	125	80	
11 9 30	155	70	
11 9 50	200	70	
11 10	230	72	
11 10 20	250	74	
11 10 40	265	85	
11 11	230	95	
11 11 20	190	105	
11 11 40	105	120	
11 11 50	105	110	
11 12	95	120	
11 12 30	90	124	
11 13	90	124	11h 13' 5 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt
11 13 30	90	122	
11 14	95	140	
11 14 30	100	140	
11 15	105	140	
11 15 30	105	140	
11 17	110	120	
11 17 30	110	126	
11 18	100	140	11h 18' 6 ccm 9proz. Peptonlösung
11 18 30	95	130	
11 19	120	107	
11 19 20	145	102	
11 19 40	125	106	
11 20	115	106	
11 20 30	105	114	
11 21	110	115	
11 21 30	105	110	
11 22	100	110	11h 22' 10 ccm 9 proz. Peptonlösung
11 22 30	100	109	
11 23	110	126	
11 23 30	120	130	
11 24	130	133	
11 25	135	138	

Zusammenfassung.

	1		2		3		4		5		6		7	
	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach
	Injektion von 6 ccm Krebsmuskelextr.		Injektion von 7 ccm Krebsmuskelextr.		Injektion von 5 ccm Blutegelextrakt		Injektion von 7 ccm Peptonlösung		Injektion von 5 ccm Krebsmuskelextr.		Injektion von 6 ccm Peptonlösung		Injektion von 10 ccm Peptonlösung	
Arterieller Blutdruck	118	50	123	98	130	104	122	70	124	122	140	102	110	109
Pfortader-Blutdruck	90	150	80	145	100	115	115	265	90	105	100	145	100	135

5. Versuch.

19. V. 1925. Versuchstier: Katze ♂. Körpergewicht 4,80 kg.
Narkose: Äther + Chloroform + Alkohol-Inhalation.

Zeit	Venöser Druck	Arter. Druck	Injektionspräparat
10h33'	100	115	
10 34	100	110	
10 35	100	115	10h 35' 6 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt
10 35 30"	110	115	
10 36	125	60	Es trat sehr tiefe Inspiration und dann inspiratorischer Atemstillstand während 1 Minute ein
10 37	130	60	
10 37 30	135	60	
10 38	120	84	
10 38 30	110	100	
10 39	100	110	
10 39 30	100	110	
10 40	100	110	
10 40 30	105	115	
10 41	110	115	10h 41' 6 ccm 50proz. Erdbeerextrakt
10 42	110	120	
10 42 30	110	120	
10 43	115	125	
10 51	125	105	
10 51 30	125	105	
10 52	125	105	10h 52' 30" 10 ccm 50proz. Erdbeerextrakt
10 53	125	109	
10 53 30	125	115	
10 54	120	109	
10 54 30	120	109	
10 55	120	109	
10 59	125	121	
10 60	125	121	
11 40	125	121	
11 1			11h 1' 10 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt
11 1 10	140	110	
11 1 30	155	100	
11 2	160	110	
11 2 30	150	105	
11 3	140	87	
11 4	130	115	
11 5	125	115	
11 5	125	115	
11 6	125	115	
11 6 30	125	114	
11 7	125	114	11h 7' 10 ccm 9proz. Peptonlösung
11 7 20	130	114	
11 7 30	135	114	
11 7 40	140	114	
11 8	145	110	
11 8 20	155	100	
11 8 30	175	100	
11 9	195	90	
11 9 30	178	80	
11 10	135	100	
11 10 30	130	110	
11 11	125	110	
11 12	145	118	
11 13	145	118	
11 13 30	145	118	11h 14' 10 ccm 9proz. Peptonlösung
11 14 10	150	110	
11 14 20	152	122	
11 14 30	155	122	
11 14 40	157	122	
11 15	160	122	
11 17	165	122	

Zusammenfassung.

	1		2		3		4		5		6	
	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach
	Injektion von 10 ccm Krebsmuskelextr.		Injektion von 6 ccm Erdbeerextrakt		Injektion von 10 ccm Erdbeerextrakt		Injektion von 10 ccm Krebsmuskelextr.		Injektion von 10 ccm Peptonlösung		Injektion von 10 ccm Peptonlösung	
Arterieller Blutdruck	115	60	115	120	105	109	121	87	114	80	118	110
Pfortader-Blutdruck	100	135	110	115	125	125	125	160	125	195	145	165

6. Versuch.

26. V. 1925. Versuchstier: Katze. Körpergewicht 3,250 kg.
Narkose: Äther + Chloroform + Alkohol-Inhalation.

Zeit	Venöser Druck	Arter. Druck	Injektionspräparat
5h25′	130	160	
5 30	130	155	
5 32	125	160	
5 33 15″	135	140	5h 33′ 10 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt
5 33 30	160	92	
5 33 45	190	98	
5 34	210	112	
5 34 15	190	124	
5 34 30	160	128	
5 34 45			
5 35	170	140	
5 35 30	150	150	
5 36	135	154	
5 37	150	154	
5 37 30	145	140	
5 38	150	154	
5 38			10 ccm 50proz. Erdbeerextrakt
5 38 15	155	158	
5 38 30	160	160	
5 38 45	175	163	
5 39	175	172	
5 39 30	160	180	
5 40	155	178	
41	155	166	
5 41 30	155	166	
5 42	160	168	

Zeit	Venöser Druck	Arter. Druck	Injektionspräparat
5h42′ 15″	170	159	5h 42′ 10 ccm 6proz. Blutegelextrakt
5 42 30	175	120	
5 42 45	180	128	
5 43	200	140	
5 43 15	183	148	
5 43 30	170	146	
5 44	155	144	
5 45	145	156	
5 40	150	156	
5 46 15	160	144	5h 46′ 12 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt
5 46 30	175	111	
5 46 45	205	116	
5 47	190	136	
5 47 15	165	141	
5 47 30	165	138	
5 47 45	165	135	
5 48	170	132	
5 48 30	160	127	
5 49	160	126	
6 1 30	120	107	
6 1 40	115	110	
6 2	120	115	6h 2′ 12 ccm 9proz. Peptonlösung
6 2 15	120	122	
6 2 30	120	114	
6 2 45	115	108	
6 3	100	100	
6 3 30	105	100	
6 4	105	105	

Zusammenfassung.

	1		2		3		4		5	
	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach
	Injektion von 10 ccm Krebsmuskelextr.		Injektion von 10 ccm Erdbeerextrakt		Injektion von 10 ccm Blutegelextrakt		Injektion von 12 ccm Krebsmuskelextr.		Injektion von 12 ccm Peptonlösung	
Arterieller Blutdruck	160	92	154	158	168	120	156	111	114	100
Pfortader Blutdruck	125	210	150	175	160	200	150	205	120	120

Untersuchungen über die Eigenschaften und die Entstehung der Lymphe.

X. Mitteilung:

Untersuchungen über den Einfluß der spezifischen Lymphagoga auf die Gefäße überlebender Organe.

Von

Yukijiro Abe.

[Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern (Hallerianum)].

(Eingegangen am 4. September 1925.)

In der vorausgegangenen Arbeit habe ich über Untersuchungen berichtet, welche an Hunden und Katzen durch gleichzeitige Registrierung des Druckes in der Pfortader und in einer Arterie Aufschluß über die Kreislaufsverhältnisse in der Leber verschaffen sollten. Dies geschah mit Rücksicht auf die Frage, ob die Lymphbildung unter dem Einfluß der spezifischen Lymphagoga durch das mechanische Moment des gesteigerten venösen Kapillardruckes in der Leber zu erklären sei. Meine Versuche ergaben zwar, daß Drucksteigerungen in der Pfortader nach Injektion der spezifischen Lymphagoga beobachtet werden konnten. Trotzdem kam ich zu einer Ablehnung, daß diese Drucksteigerungen die eigentlichen Ursachen der vermehrten Lymphbildung sein sollen. Die Gründe hierfür waren die nachfolgenden:

Die Drucksteigerungen waren durch venöse Stauungen bedingt, welche erfahrungsgemäß mit gesteigerter und veränderter Permeabilität einhergeht; die größten Drucksteigerungen fielen mit einer Veränderung der Atmung zusammen; die Drucksteigerungen waren nur flüchtiger Natur, viel kürzer als die Dauer der gesteigerten Lymphbildung; schließlich waren die Druckveränderungen ganz unregelmäßiger Natur, während die Vermehrung der Lymphbildung durch die Lymphagoga bei Hunden eine regelmäßige ist; die mechanischen Veränderungen des Kreislaufs in der Leber erschienen demnach als Begleiterscheinungen, aber nicht als primäre Ursache.

Bei der Wichtigkeit des Gegenstandes verlohnte es sich jedoch, noch auf eine andere Weise auf die etwaigen Einflüsse der Lymphagoga, auf die Kreislaufsverhältnisse, einzugehen. Ich habe daher auf Anregung von Prof. *Asher* an überlebenden Organen die Wirkung der spezifischen Lymphagoga auf die Gefäße untersucht.

Als Versuchstiere dienten Meerschweinchen, Kaninchen, Katzen und Ratten. Die ersten drei Tiere erhielten die gewöhnliche Kost des Laboratoriums, was die anderen, Ratten, anbetrifft, so habe ich diese mit ver-

schiedener Kost ernährt, einige mit Fleischkost, indem ich ihnen Kalbfleisch und Milch während etwa 8 Tagen gab. Die anderen erhielten vegetabilische Kost, bestehend aus Reis und Mais. Auch diese Ernährung wurde während 8 Tagen vor dem Versuch fortgesetzt. Schließlich erhielten einige Ratten gemischte Kost. Die Idee, welche bei der verschiedenen Ernährung maßgebend war, war die, daß eine verschiedene Ernährung möglicherweise auf die Funktionsfähigkeit der Gefäße von Einfluß sein konnte. Namentlich lag dieser Gedanke bei der Leber nahe, die recht große Schwankungen in ihrem Verhalten je nach der vorausgegangenen Ernährung zeigt. Als Versuchsorgane dienten die Lebern von Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen und Katzen; die Lungen von Meerschweinchen, Ratten und Katzen und die Nieren von Katzen und Kaninchen. Als Durchströmungslösung diente eine Tyrodelösung für Säugetiere. Der Durchströmungsdruck war je nach dem Organ verschieden, für die Leber betrug er 2 bis 11 mm Hg, für die Lunge 6 bis 16 mm Hg, für die Niere 30 bis 36 mm Hg. Der Druck wurde durch eine *Mariotte*sche Flasche geregelt und konstant erhalten. Die Versuchstemperatur hielt ich auf 36 bis 37°, und zwar dadurch, daß ich zwischen der *Mariotte*schen Flasche und der zuführenden Kanüle eine in einem Wasserbade liegende Glasschlange vorschaltete. Die Temperatur des Wasserbades wurde durch eine Mikroflamme reguliert. Außerdem wurden durch Glühlampen von oben her der Kasten, in dem sich die Organe befanden, auf konstanter Wärme erhalten.

Die Leber wurde nicht für sich allein in ein besonderes zur Registrierung der Volumenschwankungen konstruiertes Gefäß nach Art eines Plethysmographen gebracht, sondern immer im Zusammenhange mit dem mittleren Körperteil des Tieres. Die Präparation geschah in folgender Weise: das Tier wurde durch Kopfschlag getötet, die Bauchhöhle geöffnet und die Vena cava inferior im unteren Teil unterbunden, die Eingeweide nach der linken Seite gezogen und die Kanüle an die Vena porta und an die Vena cava inferior nach Eröffnung des Thorax in der Nähe des Herzens eingeführt. Sodann wurde nach Anlegung von zwei Ligaturen, die um den ganzen Umfang des Körpers angelegt wurden, das untere und das obere Drittel des Körpers abgetrennt. Die Leber hängt dann nur mit dem mittleren Drittel des Körpers zusammen.

Die Lungen werden zusammen mit dem Herz herauspräpariert und in den Plethysmograph gebracht. Zur Präparation wurde nach Tötung des Tieres der Thorax eröffnet und das Herz frei gelegt, sodann wurde durch den rechten Ventrikel die Kanüle in die rechte Arteria pulmonalis eingeführt und fixiert. Die zweite Kanüle wurde in den linken Vorhof eingeführt und ebenfalls fixiert. Alle Gefäße, die zum Herzen zentripetal und vom Herzen zentrifugal verlaufen, wurden unterbunden. Lungen und Herz wurden gemeinschaftlich, ohne Verletzung der Lungen, aus der Brusthöhle herauspräpariert. Die Bronchien und die mit diesen verlaufenden Gefäße wurden unterbunden.

Zur Durchströmung der Niere wurde meist die linke Niere benutzt, da auf dieser Seite die Gefäße länger sind. Nach Tötung des Tieres wurde die Bauchhöhle eröffnet und die linke Niere freigelegt. Sodann wurde sie zusammen mit der Arteria und Vena renalis entfernt, und nach schonender Abkapselung der Niere führte ich die Kanüle in die Arteria und Vena renalis ein.

Um einen genauen Aufschluß über das Verhalten der Gefäße zu bekommen, habe ich mich gleichzeitig zweier Methoden bedient,

nämlich der Registrierung der Tropfenzahl und des Volumens der Organe. Die Registrierung der Tropfenzahl geschah nach der *Straub*schen Methode mit Hilfe eines Hebels, an dem ein Deckgläschen schief unter Neigung von ungefähr 40° angebracht war. Der Hebel sollte so eingestellt sein, daß die Tropfen ungefähr von 12 cm Höhe auf die Mitte des Deckgläschens fallen. Der Hebel wird vorher genau durch ein Gewicht equilibriert. Um die Schwankungen des Hebels zu dämpfen, brachte ich unter den Hebel einen Stab, der mit Gummi gepolstert war.

Zur Aufnahme der Leber, um deren Volumenschwankungen zu registrieren, benutzte ich ein zylindrisches Gefäß von ungefähr 11 cm Durchmesser, die Höhe desselben betrug 5 bis 6 cm, seitlich, in mittlerer Höhe, waren rechts und links Löcher für die Aufnahme von Gummistopfen gebohrt. Die Gummistopfen sind ebenfalls für die Aufnahme des Fortsatzes dei Kanäle in der Mitte durchbohrt. Dieses Gefäß wird in das Wasserbad gestellt. Auf den Boden desselben brachte ich eine dicke, mit Tyrodelösung durchtränkte Wattelage, worauf das Organ zu liegen kam. Das Gefäß wird durch eine Glasscheibe, die in der Peripherie eine Rinne trägt, hermetisch geschlossen. Um den Verschluß zu sichern, wird die Glasscheibe mit einer dicken Schicht von Vaseline bestrichen, und außerdem wird auf die Scheibe ein Gewicht von 10 kg gelegt. In dieser Glasscheibe sitzt außerdem eine Glasröhre, die mit dem Innenraum des Gefäßes kommuniziert. Diese Glasröhre wird vermittelst eines Schlauches mit dem *Asher*schen Volumenrekorder zur Registrierung der Volumenschwankungen des Organs verbunden.

Für die Lungen und die Nieren diente ein Zylindergefäß von 4 bis 5 cm Durchmesser, 9 bis 10 cm Höhe; hermetischer Verschluß kann durch Gummistopfen erzielt werden. Der Gummistopfen ist dreifach durchbohrt, zwei Löcher sind für die Kanülen (zuführende und abführende) bestimmt. In das dritte Loch kommt ein kurzes Glasrohr, das wieder mittels Schlauch mit dem *Asher*schen Volumenrekorder verbunden ist. Auch dieses Gefäß kommt ins Wasserbad.

Die Bedeutung dieser doppelten Registriermethode, die meines Wissens gleichzeitig an überlebenden Organen noch nicht vielfach angewandt worden ist[1]), wird am klarsten, wenn man den Fall der Leber, für den die doppelte Registrierung wesentlich in Betracht kommt, und der aus theoretischen Gründen der interessanteste ist, in das Auge faßt. Die Tropfenzahl, welche der Leber entströmt, gibt nur darüber Aufschluß, wie viele Tropfen in der Zeiteinheit unter den vorliegenden Bedingungen bei konstantem Einlauf ausfließen, nicht

[1]) Nur in den Versuchen von *Mautner* und *Pick* (*H. Mautner* und *E. P. Pick*, diese Zeitschr. **127**, 72, 1922), welche das Verhalten der Schockgifte an der überlebenden Leber untersuchten, wurde einige Male ein Onkometer angewandt.

aber darüber, wodurch bei Verminderung der Tropfenzahl dies letztere Ergebnis bedingt wird. Dazu verhilft nur die gleichzeitige Registrierung des Volumens des Organs. Vermindert sich die Tropfenzahl, und vermindert sich gleichzeitig das Volumen des Organs, so besagt dies, daß die Kapillaren in der Leber verengt sind. Wenn aber mit der Verminderung der ausfließenden Tropfenzahl eine Volumenvergrößerung des Organs stattfindet, so besagt dies, daß am Ausgang der Leber die Venen sich verengt haben, so daß infolge dieser Sperrung das Blut nicht abfließen kann, wohl aber in genügenden Mengen in die Leber einfließen kann, um das Organ an Volumen zunehmen zu lassen. Ob analoge Betrachtungen an anderen Organen angestellt werden können, steht noch dahin. Jedenfalls scheint mir eine doppelte Registrierung in mancher Beziehung einen besseren Aufschluß über das Verhalten der Gefäße zu liefern, als es die ursprünglich von *Kronecker* stammende, jetzt *Laewen-Trendelenburg* genannte Methode und ihre mannigfachen neueren Modifikationen erlauben.

Ich bespreche zunächst meine Versuche an der Rattenleber von Tieren, welche mit vegetabilischer Kost ernährt worden waren. Die abschließenden Ergebnisse sind in Tabelle Ia zusammengefaßt.

Es ergibt sich, daß ausnahmslos sämtliche Lymphagoga, die ich verwandt habe, eine Verminderung der ausfließenden Tropfenzahl bewirken. Die Verminderungen sind bald außerordentlich groß, bald sind sie geringer. Beispielsweise verminderte Peptonlösung die Tropfenzahl in einem Falle von 64 auf 5, in einem anderen Falle von 33 auf 5, in einem dritten Falle von 41 auf 7. Blutegelextrakt und Krebsmuskelextrakt haben im allgemeinen, mit einer Ausnahme beim Krebsmuskelextrakt, die Tropfenzahl viel weniger vermindert.

Welche Bewandtnis es mit der Verminderung der Tropfenzahl hat, geht aus den Ergebnissen der gleichzeitigen Registrierung des Volumens der Leber hervor. Ausnahmslos hat sich in allen Fällen das Volumen der Leber nach Injektion von Lymphagoga vermindert. Daraus geht zwingend hervor, daß die Verminderung der Tropfenzahl nicht auf einer Betätigung eines Sperrmechanismus am Ausgang der Leber beruht, vielmehr ausschließlich auf einer Verengerung der Kapillaren der Leber. Es ist nicht ohne Interesse, daß hier zum ersten Male die verengernde Wirkung der spezifischen Lymphagoga auf die venösen Kapillaren gezeigt worden ist. Allerdings gilt dies zunächst für die überlebende Rattenleber.

Die nächste Versuchsreihe befaßt sich mit Untersuchungen an der überlebenden Rattenleber von Tieren, welche vorher mit Fleischkost ernährt worden waren. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe bringe ich zusammengefaßt in Tabelle Ib.

Auch in dieser Versuchsreihe ist das Ergebnis ein ganz eindeutiges. Es zeigt sich ausnahmslos eine Verminderung der Tropfenzahl nach Injektion der verschiedenen spezifischen Lymphagoga. Ferner, genau wie in der früheren Versuchsreihe, ausnahmslos eine Abnahme des Volumens. Es gelten daher dieselben Erwägungen, wie ich sie in der voraufgehenden Versuchsreihe angestellt habe. Insofern ist ein gewisser Unterschied gegenüber der früheren Versuchsreihe zu konstatieren, als die Abnahme der Tropfenzahl in dieser Reihe geringer ist als in der früheren. Versuchsweise möchte ich den Unterschied in der voraufgehenden Ernährung erklären. Die Tiere waren in dieser Versuchsreihe absichtlich mit Fleischkost ernährt worden. Dies bedingt, daß die Leber eine ganze Zeit lang mit Eiweißabfallprodukten gespeist wird, die eine gewisse Ähnlichkeit mit den spezifischen Lymphagoga haben können. Hieraus konnte eine gewisse Anpassung an derartige Stoffe resultieren, und die Folge dieser Anpassung wäre, daß die spezifischen Lymphagoga in diesem Falle weniger intensiv wirken würden.

Bei der genaueren Durchsicht der Einzelprotokolle (alle Einzelprotokolle bringe ich der Übersichtlichkeit wegen gemeinschaftlich am Ende meiner Arbeit) erkennt man, daß die Zeitdauer der veränderten Durchströmung durch die Leber infolge der Injektion von Lymphagoga nur eine verhältnismäßig kurze war. Selbst wenn die Verminderungen sehr groß waren, glichen sich in wenigen Minuten die Tropfenzahl und das Organvolumen wieder aus. Es verhalten sich demnach diese Veränderungen anders, wie beispielsweise die Veränderungen nach Injektion von Adrenalin, die zu einer gleichen Größenverminderung der Tropfenzahl führen. Die Wirkungen des Adrenalins persistieren viel länger als diejenigen der spezifischen Lymphagoga. Die Flüchtigkeit der Wirkungen ist für die theoretischen Betrachtungen hinsichtlich des Zusammenhanges zwischen spezifischen Lymphagoga zu den Kreislaufsveränderungen und Lymphbildung nicht unwichtig. Die hier festgestellten Veränderungen in den Gefäßen sind viel kürzer dauernd als die Wirkungen auf Lymphbildung. Ich habe schon in meiner voraufgehenden Mitteilung darauf hingewiesen, daß die zeitlichen Verhältnisse der Änderungen des Portaldruckes am lebenden Hunde und an der lebenden Katze sehr dagegen sprechen, dieselben in ursächlichen Zusammenhang mit der vermehrten Lymphbildung zu bringen. Die jetzt erörterten Versuchsreihen führen zu dem gleichen Schlusse und unterstützen den früher gezogenen. Außerdem kommt noch in dieser Versuchsreihe die wichtige Tatsache hinzu, daß keine Andeutung der Wirksamkeit eines Sperrmechanismus vorhanden ist.

In der nachfolgenden Versuchsreihe bringe ich die Ergebnisse an Meerschweinchenlebern und an Kaninchenlebern. Dieselben sind in der Tabelle Ic und Id zusammengefaßt.

Tab

Vegetabilische K

Nr.	Datum	Durchströmungsflüssigkeit	Durchströmungsdruck mm Hg	Temperatur °C	Periode	Mittlere Tropfenza pro Minute vor Injektion d. Lymphago	nach
1	16. I.	Tyrodelösung	5	37	1	19	11
			5	37	2	23	11
2	17. I.		6	36	1	64	5
3	18. I.		6	36	1	36	19
			6	36	2	38	19
			6	36	3	31	16
4	24. II.		6	36	1	36	33
			6	36	2	33	5
			6	36	3	33	21
			6	36	4	19	5
5	3. III.		5	37	1	38	3
			5	37	2	47	19
			5	37	3	33	22
6	4. III.		6	37	1	40	16
			6	37	2	45	33
7	5. III.		7	37	1	64	32
			7	37	2	67	61
8	5. III.		6	37	1	55	19
			6	37	2	44	26
			6	37	3	37	12
			6	37	4	41	7

Tab

Fleischk

Nr.	Datum	Durchströmungsflüssigkeit	Durchströmungsdruck mm Hg	Temperatur °C	Periode	vor	nach
1	27. I.	Tyrodelösung	7	37	1	30	6
			7	37	2	29	15
2	27. II.		6	36	1	26	14
			6	36	2	23	10
			6	36	3	22	15
3	28. II.		3	37	1	16	9
			3	37	2	26	28
			3	37	3	38	18
4	28. II.		4	37	1	39	23
			4	37	2	33	26
5	2. III.		5	37	1	36	7
			5	37	2	39	31
			5	37	3	53	46
			5	37	4	45	36
			5	37	5	41	30
6	3. III.		4	37	1	52	47
7	4. III.		5	36	1	30	30

*) Es wurde die Tropfenzahl nur während der ersten 4 Minuten nach und v

ı,

ıttenleber.

·unahme (+) oder ·bnahme (−) des ·rganvol.	Injektionspräparate und Menge	Versuchsorgan	Körpergewicht g	Versuchstier
—	Krebsmuskelextrakt 1,2 ccm	Leber	214	Weiße Ratte
—	Peptonlösung . . . 1,0 „		214	
—	„ . . . 1,0 „		162	
—	Krebsmuskelextrakt 1,5 „		160	
—	„ 1,8 „		160	
—	Blutegelextrakt . . 1,5 „		160	
—	Blutegelextrakt . . 0,3 „		175	
—	Peptonlösung . . . 0,3 „		175	
—	Krebsmuskelextrakt 0,5 „		175	
—	„ 1,2 „		175	
—	„ 0,3 „		186	
—	Blutegelextrakt . . 0,3 „		186	
—	Krebsmuskelextrakt 0,3 „		186	
—	„ 0,3 „		190	
—	„ 0,2 „		190	
—	„ 0,2 „		173	
—	Blutegelextrakt . . 0,2 „		173	
—	Krebsmuskelextrakt 0,2 „		184	
—	„ 0,3 „		184	
—	Peptonlösung . . . 0,2 „		184	
—	„ . . . 0.3 „		184	

ı,

ıttenleber.

—	Krebsmuskelextrakt 0,5 ccm	Überlebende Rattenleber	170	Weiße Ratte
—	Blutegelextrakt . . 0,5 „		170	
—	„ . . 0,5 „		181	
—	Krebsmuskelextrakt 0,5 „		181	
—	Peptonlösung . . . 0,3 „		181	
—	Krebsmuskelextrakt 0,3 „		192	
—	Blutegelextrakt . . 0,4 „		192	
—	Peptonlösung . . . 0,4 „		192	
—	Krebsmuskelextrakt 0,4 „		189	
—	Blutegelextrakt . . 0,4 „		189	
—	Peptonlösung . . . 0,3 „		193	
—	Krebsmuskelextrakt 0,3 „		193	
—	Blutegelextrakt . . 0,3 „		193	
—	„ . . 0,4 „		193	
—	„ . . 0,5 „		193	
—	Peptonlösung . . . 0,4 „		175	
—	„ . . . 0,7 „		188	

ᶦ Injektion von Lymphagoga gezählt.

Tab

Gewöhnliche Kr

Nr.	Datum	Durchströmungsflüssigkeit	Durchströmungsdruck mm Hg	Temperatur °C	Periode	Mittlere Tropfenzahl pro Minute vor Injektion d. Lymphag	nach
1	9. III.	Tyrodelösung	5	37	1	15	10
			5	37	2	15	10
			6	37	3	26	18
			6	37	4	24	9
2	9. III.		5	37	1	17	8
			5	37	2	15	7
			5	37	3	17	6
3	12. III.		10	37	1	32	16
4	13. III.		7	36	1	35	28
			7	36	2	40	30
5	12. III.		10	37	1	40	32

Tab

Gewöhnliche K

Nr.	Datum	Durchströmungsflüssigkeit	Durchströmungsdruck mm Hg	Temperatur °C	Periode	vor	nach
1	10. V.	Tyrodelösung	3	37	1	53	21
1			3	37	2	65	50

Tab

Gewöhnliche K

Nr.	Datum	Durchströmungsflüssigkeit	Durchströmungsdruck mm Hg	Temperatur °C	Periode	vor	nach
1	1. V.	Tyrodelösung	2	37	1	68	57
			3	37	2	69	34
			2	37	3	66	59
			3	37	4	59	55
			2	37	5	58	55
2	27. V.		3	37	1	46	26
			3	37	2	44	35
			2	37	3	26	20
			2	37	4	17	11
			2	37	5	18	8
			2	37	6	14	1[illegible]
3	26. V.		2	37	1	44	3[illegible]
			2	37	2	32	1[illegible]
			2	37	3	12	7
4	23. V.		3	37	1	67	51
5	23. V.		3	37	1	39	2[illegible]
6	27. V.		3	37	1	29	1[illegible]
			3	37	2	22	4
			2	37	3	17	11
			2	37	4	16	9
7	29. V.		2	37	1	33	1[illegible]
8	13. V.		2	37	1	36	29

*) Es wurde die Tropfenzahl nur während der ersten 4 Minuten nach und

c.

eerschweinchenleber.

Zunahme (+) oder Abnahme (−) des Organvol.	Injektionspräparat und Menge		Versuchsorgan	Körpergewicht g	Versuchstier
—	Blutegelextrakt . .	0,4 ccm	Leber	482	Meerschweinchen
—	Krebsmuskelextrakt	0,4 „		482	
—	Peptonlösung . . .	0,3 „		482	
—	Krebsmuskelextrakt	0,4 „		482	
—	Blutegelextrakt . .	0,4 „		454	
—	Krebsmuskelextrakt	0,4 „		454	
—	„	0,6 „		454	
—	Peptonlösung . . .	0,8 „		463	
—	Krebsmuskelextrakt	0,5 „		349	
—	Blutegelextrakt . .	0,5 „		349	
—	„ . .	0,8 „		415	

d.

aninchenleber.

Zunahme (+) oder Abnahme (−) des Organvol.	Injektionspräparat und Menge		Versuchsorgan	Körpergewicht g	Versuchstier
—	Peptonlösung . . .	0,5 ccm	Leber	1850	Kaninchen
—	Blutegelextrakt . .	0,6 „		1850	

e.

atzenleber.

Zunahme (+) oder Abnahme (−) des Organvol.	Injektionspräparat und Menge		Versuchsorgan	Körpergewicht g	Versuchstier
—	Krebsmuskelextrakt	1,2 ccm	Leber	2700	Katze
—	Blutegelextrakt . .	1,4 „		2700	
—	Peptonlösung . . .	0,7 „		2700	
—	„ . . .	0,7 „		2700	
—	„ . . .	1,2 „		2700	
—	Blutegelextrakt . .	2,0 „		985	
—	Krebsmuskelextrakt	2,0 „		985	
—	Erdbeerenextrakt .	2,0 „		985	
—	Krebsmuskelextrakt	2,0 „		985	
—	Blutegelextrakt . .	2,0 „		985	
—	Peptonlösung . . .	2,0 „		985	
—	Blutegelextrakt . .	2,0 „		2530	
—	Erdbeerenextrakt .	2,0 „		2530	
—	Peptonlösung . . .	2,0 „		2530	
—	Blutegelextrakt . .	2,0 „		800	
—	Krebsmuskelextrakt	2,0 „		850	
0	Blutegelextrakt . .	2,0 „		830	
0	„ . .	2,0 „		830	
0	Krebsmuskelextrakt	2,0 „		830	
—	Peptonlösung . . .	2,0 „		830	
—	Krebsmuskelextrakt	2,0 „		950	
—	„	2,0 „		2750	

er Injektion von Lymphagoga gezählt.

Das Resultat dieser Versuchsreihe läßt sich kurz dahin zusammenfassen, daß es genau das gleiche ist, wie in der früheren Versuchsreihe. Es besteht in einer Verminderung der Tropfenzahl und in einer Abnahme des Volumens der Leber. Die Größe der Verminderung ist nicht so erheblich wie bei der Ratte, aber sie ist immerhin deutlich vorhanden. Von besonderem Interesse ist das Ergebnis mit Peptonlösung am Kaninchen. Peptonlösung verminderte die ausfließende Tropfenzahl von 53 auf 21. Das Volumen des Organs nahm entsprechend ab. Diese Tatsache ist deshalb interessant, weil das Kaninchen ein Lebewesen ist, welches ganz anders auf Pepton reagiert als der Hund und die Katze. Es gibt keine vermehrte Lymphbildung, es gibt keine Verminderung der Gerinnung. Auch sonst wirkt Pepton anders wie auf Hund und Katze. Aber die Wirkung des Peptons auf die Gefäße, wenigstens im überlebenden Zustande, ist die gleiche, wie bei denjenigen Tieren, bei denen dieser Stoff die Lymphbildung fördert. Dies scheint mir ein neuer Anhaltspunkt dafür zu sein, daß die Wirkung der spezifischen Lymphagoga auf die Gefäße der Leber eine in erheblichem Umfange von der Lymphbildung dissoziierbare Erscheinung ist.

In der nächsten Versuchsreihe bringe ich meine Versuche an der Katzenleber, von Tieren, die vorher mit gewöhnlicher Kost ernährt worden waren. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe teile ich in der Übersichtstabelle Ie mit. Dieser Versuchsreihe kommt deshalb ein besonderes Interesse zu, weil Katzen unzweifelhaft Tiere sind, bei denen die Lymphagoga spezifische Wirkung haben. Es zeigt sich nun, daß der Zusatz von spezifischen Lymphagoga zur Durchströmungsflüssigkeit der Katzenleber zwar qualitativ den gleichen Einfluß auf die Kreislaufsverhältnisse in der Leber haben, wie in meinen bisherigen Versuchen, daß aber die Verminderung der Tropfenzahl wesentlich geringer ist, als bei den früheren Versuchen. In der Mehrzahl der Fälle war auch die Abnahme des Volumens des Organs zu konstatieren. Aber in drei Fällen, wo die Tropfenzahl nach der Injektion der Lymphagoga deutlich abnahm, blieb das Volumen unverändert. Zu diesen Ergebnissen ist folgendes zu sagen:

1. ist auch an der überlebenden Katzenleber der Einfluß des Sperrmechanismus nicht nachweisbar, denn es tritt keine Volumenvermehrung des Organs ein.

2. Die Verengerung der Kapillaren in der Leber, gemessen an der Verminderung der ausfließenden Tropfenzahl, ist eher etwas geringer als bei solchen Tieren, bei denen die spezifische Wirkung der Lymphagoga mehr oder weniger vermißt wird. Ich sehe in dem Ausfall der Versuche an der Katzenleber einen neuen Hinweis dafür, daß den mechanischen Momenten des Kreislaufes in der Leber höchstens eine

sekundäre Rolle bei der Bildung der Lymphe unter dem Einfluß der spezifischen Lymphagoga zukommen kann.

Ich gehe jetzt zu den Versuchen über, die ich an der überlebenden Lunge angestellt habe. Die Lungengefäße verdienten, in diese Untersuchung einbezogen zu werden, weil bei gewissen Tieren die Schockwirkung nicht in die Leber, sondern in die Lunge zu lokalisieren ist. Ich habe die Lunge von Meerschweinchen, von Ratten und von Katzen untersucht. Alle diese Tiere wurden vorher mit gewöhnlicher Kost ernährt, weil es vorerst nicht dringlich erschien, an anderen Organen als der Leber den Einfluß verschiedener Ernährung zu studieren.

Ich beginne mit meinen Ergebnissen an der Meerschweinchenlunge, welche in Tabelle IIa niedergelegt sind.

Aus dieser Tabelle ergibt sich, daß ausnahmslos alle angewandten spezifischen Lymphagoga eine Verminderung der Tropfenzahl und eine Abnahme des Volumens der Organe veranlaßten. Die Meerschweinchenlunge verhält sich nach meinen Versuchen genau wie die Leber. Die Wirkung der Lymphagoga auf den Kreislaufmechanismus des überlebenden Organs ist jedenfalls für die Leber nicht spezifisch. Irgend ein Anhaltspunkt für venöse Stauung, die beim Schock des Meerschweinchens eine nicht geringe Rolle spielt, ließ sich nicht finden.

In der nächsten Versuchsreihe berichte ich über meine Ergebnisse an Lungen von Ratten und an Lungen von Katzen.

Ich kann die Ergebnisse dieser beiden Reihen gemeinschaftlich erörtern. Wiederum zeigt sich, daß die angewandten Lymphagoga die ausfließende Tropfenzahl und das Volumen des Organs vermindern. Demnach haben sowohl auf die Kapillaren der Lungen der Ratten, wie derjenigen der Katzen die Lymphagoga eine verengernde Wirkung. Ein anderes Moment als die Verengerung der Kapillaren hat an der Verminderung der Tropfenzahl keinen Anteil.

Meine letzte Versuchsreihe beschäftigt sich mit dem Einfluß der spezifischen Lympahgoga auf die Niere der Katze und die Niere des Kaninchens. Beide Tierarten waren vor dem Versuche mit gewöhnlicher Kost ernährt. Die Ergebnisse dieser Reihe teile ich in Tabelle IIIa und IIIb mit.

In dieser Reihe machen sich Unterschiede gegenüber den bisherigen Versuchen bemerkbar. Es zeigt sich nämlich, daß die Verminderung der Tropfenzahl nur eine sehr geringe ist, ja in gewissen Fällen tritt sogar recht deutlich eine Erweiterung ein. Ich weise auf die letzten Versuche in Tabelle IIIb hin, wo die Injektion von Peptonlösung eine Vermehrung der ausfließenden Tropfenzahl von 27 auf 33 und von 26 auf 35 Tropfen in der Minute bewirkte. Ferner ist in der Mehrzahl der Fälle von einer Abnahme des Volumens des Organs nichts zu bemerken, nur in der Minderzahl der Fälle, und außerdem kam ein Fall

Tabelle IIa. Gewöhnli

Nr.	Datum	Durchströmungsflüssigkeit	Durchströmungsdruck mm Hg	Temperatur °C	Periode	Mittlere Tropfenz pro Minute vor Injektion d. Lymphag	nach
1	23. II.	Tyrodelösung	9	37	1	15	12
2	21. II.		7	37	1	29	16
			7	37	2	34	13
3	10. III.		7	36	1	20	7
4	11. III.		9	36	1	52	43
			9	36	2	52	36
5	13. III.		8	36	1	45	8
			8	36	2	48	11
6	13. III.		9	36	1	18	7
7	16. III.		7	36	1	16	6
8	21. IV.		6	36	1	19	12
			6	36	2	17	10
			6	36	3	19	9
9	22. IV.		6	36	1	41	38
10	28. IV.		7	36	1	49	26
			7	36	2	25	7
11	6. V.		6	36	1	26	20
12	6. V.		6	36	1	17	10

Tabelle IIb. Gewöhnlic

Nr.	Datum	Durchströmungsflüssigkeit	Durchströmungsdruck mm Hg	Temperatur °C	Periode	vor	nach
1	19. V.	Tyrodelösung	5	36	1	15	9
			5	36	2	12	6
2	20. V.		7	36	1	12	6
			7	36	2	13	11

Tabelle IIc. Gewöhnlic

Nr.	Datum	Durchströmungsflüssigkeit	Durchströmungsdruck mm Hg	Temperatur °C	Periode	vor	nach
1	2. IV.	Tyrodelösung	7	36	1	20	12
2	28. V.		6	36	1	22	5
			6	36	2	21	14
			6	36	3	31	17

Tabelle IIIa. Gewöhnli

Nr.	Datum	Durchströmungsflüssigkeit	Durchströmungsdruck mm Hg	Temperatur °C	Periode	vor	nach
1	20. V.	Tyrodelösung	30	36	1	14	12
			30	36	2	13	14

Tabelle IIIb. Gewöhnli

Nr.	Datum	Durchströmungsflüssigkeit	Durchströmungsdruck mm Hg	Temperatur °C	Periode	vor	nach
1	19. III.	Tyrodelösung	31	36	1	19	19
			31	36	2	11	11
			31	36	3	11	9
2	19. III.		30	36	1	10	9
3	20. III.		31	37	1	5	4
4	21. III.		33	36	1	5	5
5	24. III.		34	37	1	3	2
			34	37	2	4	3
6	5. V.		35	36	1	41	36
			35	36	2	29	26
			35	36	3	27	33
			35	36	4	26	35

*) Es wurde die Tropfenzahl nur während der ersten 4 Minuten nach und

ost. Meerschweinchenlunge.

Zunahme oder Abnahme des Organvolumens	Injektionspräparat und Menge	Versuchsorgan	Körpergewicht g	Versuchstier
—	Krebsmuskelextrakt 0,5 ccm	Lunge	555	Meerschweinchen
—	Blutegelextrakt . . 0,4 „		392	
—	Peptonlösung . . . 0,3 „		392	
—	Krebsmuskelextrakt 0,2 „		510	
—	„ 0,4 „		397	
—	Blutegelextrakt . . 0,4 „		397	
—	Krebsmuskelextrakt 0,3 „		349	
—	Blutegelextrakt . . 0,4 „		349	
—	Krebsmuskelextrakt 0,3 „		471	
—	Peptonlösung . . . 0,7 „		490	
—	Blutegelextrakt . . 0,3 „		337	
—	Krebsmuskelextrakt 0,5 „		337	
—	Peptonlösung . . . 0,5 „		337	
—	Blutegelextrakt . . 0,2 „		610	
—	„ . . 0,6 „		500	
—	Peptonlösung . . . 0,5 „		500	
—	„ . . . 0,5 „		341	
—	Krebsmuskelextrakt 0,5 „		405	
ost. Rattenlunge.				
—	Blutegelextrakt . . 0,4 ccm	Lunge	260	Weiße Ratte
—	Peptonlösung . . . 0,2 „		260	
—	Blutegelextrakt . . 0,4 „		253	
0	Peptonlösung . . . 0,3 „		253	
ost. Katzenlunge.				
—	Krebsmuskelextrakt 0,9 ccm	Lunge	2540	Katze
—	„ 1,5 „		2950	
—	Blutegelextrakt . . 2,0 „		2950	
—	Peptonlösung . . . 2,0 „		2950	
ost. Katzenniere.				
0	Krebsmuskelextrakt 0,5 ccm	Niere	2480	Katze
—	„ 1,2 „		2480	
ost. Kaninchenniere.				
—	Krebsmuskelextrakt 0,4 ccm	Niere	2850	Katze
0	„ 0,3 „		2850	
—	Blutegelextrakt . . 0,3 „		2850	
—	Krebsmuskelextrakt 0,4 „		2850	
—	„ 0,5 „		2730	
—	Blutegelextrakt . . 1,0 „		2030	
0	Krebsmuskelextrakt 0,2 „		2700	
0	Blutegelextrakt . . 1,5 „		2700	
0	Krebsmuskelextrakt 0,6 „		2200	
0	Blutegelextrakt . . 0,5 „		2200	
0	Peptonlösung . . . 0,5 „		2200	
0	„ . . . 0,6 „		2200	

r Injektion der Lmphagoga gezählt.

vor, wo deutlich eine Zunahme des Volumens des Organs zu konstatieren war. Dieser Fall betrifft die Katzenniere, als sie mit Tyrodelösung unter Zusatz von Krebsmuskelextrakt perfundiert wurde.

Es ergibt sich aus dieser Versuchsreihe, daß die Nierengefäße eine Sonderstellung unter den Gefäßen des tierischen Organismus einnehmen, eine Sonderstellung, die nach mancherlei Richtung hin bekannt ist. Die vorstehenden Tatsachen liefern hierfür ein neues Beispiel, indem sie die Sonderstellung gegenüber den spezifischen Lymphagoga zeigen.

Die in der Arbeit mitgeteilten Versuche zeigen, daß die *Heidenhain*schen spezifischen Lymphagoga oder die *Asher*schen Lebergifte auf die Gefäße einer Reihe von überlebenden Organen eine Wirkung ausüben. Auf alle untersuchten Organe mit Ausnahme der Niere bestand diese Wirkung in einer Verengerung der Kapillaren. Eine Volumenvergrößerung des Organs war nicht zu konstatieren. Dies ist namentlich für die Leber wichtig, weil man aus den hier mitgeteilten Versuchen keine Anhaltspunkte für die Wirksamkeit eines Lebersperrmechanismus unter den Bedingungen meiner Versuche gewinnen kann. Die Nierengefäße nehmen eine Sonderstellung ein, indem dieselben häufig durch die spezifischen Lymphagoga erweitert werden, gelegentlich verengt. Das Volumen der Niere kann unter dem Einfluß der spezifischen Lymphagoga sogar zunehmen, ohne daß die ausfließende Tropfenzahl sich vermindert.

Zusammengefaßt sind die wesentlichen Tatsachen der vorstehenden Arbeit die nachfolgenden:

1. Es wurde eine Methode benutzt, wo durch gleichzeitige Bestimmung der ausfließenden Tropfenzahl und des Volumens überlebender Organe Aufschluß über den Einfluß der *Heidenhain*schen Lymphagoga oder der *Asher*schen Lebergifte auf den Gefäßmechanismus gesucht wurde.

2. Es ergab sich, daß die spezifischen Lymphagoga die Gefäße der Leber von Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen und Katzen ausschließlich verengerten, unter gleichzeitiger Abnahme des Volumens. Unter den Bedingungen der obigen Versuche ließ sich das Mitspielen eines Sperrmechanismus in der Leber nicht erkennen.

3. Die Gefäße der Lungen von Meerschweinchen, Ratten und Katzen wurden durch die Lymphagoga in der gleichen Weise beeinflußt.

4. Die Gefäße der Niere von Katzen und Kaninchen verhielten sich abweichend, indem Fälle vorkamen, wo die spezifischen Lymphagoga entweder gar nicht verengernd wirkten oder sogar die Gefäße erweiterten.

5. Die vorstehenden Versuche sprechen zugunsten der Auffassung, daß die spezifischen Lymphagoga ihre lymphtreibende Wirkung nicht primär einer mechanischen Beeinflussung der Gefäße in der Leber verdanken.

Tabelle I a.

Versuch 1 vom 16. I. 1925.
Versuchstier: Weiße Ratte ♂. Vegetabilische Nahrung. Rattenleber.
Temperatur: 37°. Körpergewicht: 214 g. Versuchsorgan: Leber.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
	Periode 1.					Periode 2.			
83		19	0	5	93		23	0	6
84		19	0	5	94		23	0	6
85		19	0	5	95		23	0	6
86	1,2 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	12	—	5	96	1 ccm 9 proz. Peptonlösung	16	—	6
87		5	—	5	97		8	—	6
88		10	—	5	98		10	—	6
89		16	0	5	99		12	—	6
90		17	—	5	100		15	—	6
91		18	—	5	101		18	0	6
92		19	—	5	102		21	—	6
					103		22	—	6
					104		23	—	6

Versuch 2 vom 17. I. 1925.
Versuchstier: Weiße Ratte. Vegetabilische Nahrung. Rattenleber.
Temperatur 36°. Körpergewicht: 162 g. Versuchsorgan: Leber.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
31		63	0	6	39		4	0	6
32		64	0	6	40		8	+	6
33		64	0	6	41		14	+	6
34	1 ccm 9 proz. Peptonlösung	13	—	6	42		26	+	6
35		2	—	6	43		34	+	6
36		2	—	6	44		45	+	6
37		2	—	6	45		47	+	6
38		2	—	6	46		49	+	6

Versuch 3 vom 18. I. 1925.
Versuchstier: Weiße Ratte ♂. Vegetabilische Nahrung. Rattenleber.
Temperatur 36°. Körpergewicht 160 g. Versuchsorgan: Leber.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
	Periode 1.					Periode 2.			
71,5		37	0	6	83		38	0	6
72,5		36	0	6	84		38	0	6
73,5		35	0	6	85		37	0	6
74,5	1,5 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	22	—	6	86	1,8 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	19	—	6
75,5		8	—	6	87		6	—	6
76,5		26	—	6	88		13	—	6
77,5		43	0	6	89		38	—	6
78,5		50	?	6	90		46	0	6
79,5		52	+	6	91		45	0	6
80,5		52	+	6	92		45	0	6
					93		45	0	6
					94		45	0	6

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
				Periode 3.					
96		31	0	6	102		33	0+	6
97		31	0	6	103		37	+	6
98		30	0	6	104		38	0	6
99	1,5 ccm 6proz. Blutegelextrakt	11	—	6	105		38	0	6
100		6	—	6	106		38	0	6
101		16	—	6					

Versuch 4 vom 24. II. 1925.

Versuchstier: Weiße Ratte ♀. Vegetabilische Nahrung. Rattenleber. Temperatur 36°. Körpergewicht: 175 g. Versuchsorgan: Leber.

Periode 1.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
13		35	0	6
14		35	0	6
15		37	0	6
16	0,3 ccm 6proz. Blutegelextrakt	20	—	6
17		31	—	6
18		40	—	6
19		43	0	6
20		44	0	6
21		43	0	6
22		42	0	6
23		42	0	6

Periode 2.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
29		33	0	6
30		33	0	6
31		32	0	6
32		32	0	6
33	0,3 ccm 9proz. Peptonlösung	15	=	6
34		2	—	6
35		2	=	6
36		3	=	6
37		4	—	6
38		8	—0	6
39		12	0	6
40		19	0	6
41		26	+	6
42		35	+	6
43		39	+	6
44		39	+	6
45		39	+	6

Periode 3.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
55		33	0	6
56		33	0	6
57		32	0	6
58	0,5 ccm 6proz. Blutegelextrakt	16	—	6
59		11	—	6
60		24	—	6
61		33	—	6
62		35	—	6
63		36	0	6
64		37	0	6
65		35	0	6
66		35	0	6
67		34	0	6
68		34	0	6

Periode 4.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
79		20	0	5
80		18	0	5
81		18	0	5
82	1,2 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt	13	—	5
83		3	=	5
84		2	=	5
85		3	=	5
86		8	=	5
87		11	—	5
88		15	—	5
89		19	—	5
90		23	0	5
91		24	0	5
92		27	0	5
93		28	0	5
94		28	0	5

= bedeutet sehr starke Volumenabnahme.

Versuch 5 vom 3. III. 1925.

Versuchstier: Weiße Ratte ♂. Vegetabilische Nahrung. Rattenleber.
Temperatur: 37°. Körpergewicht: 186 g. Versuchsorgan: Leber.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
Periode 1.					Periode 2.				
8		38	0	5	24		47	0	5
9		38	0	5	25		46	0	5
10		37	0	5	26		47	0	5
11	0,3 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	9	=	5	27	0,3 ccm 6 proz. Blutegelextrakt	13	=	5
12		1	=	5	28		12	=	5
13		2	=	5	29		22	=	5
14		1	—	5	30		30	=	5
15		2	—	5	31		32	=	5
16		5	—	5	32		38	—	5
17		11	—	5	33		39	—	5
18		17	—	5	34		40	0	5
19		25	—	5	35		44	0	5
20		32	0	5	36		45	0	5
21		36	0	5	37		45	0	5
22		39	+	5	38		45	0	5
23		39	+	5					
Periode 3.									
67		31	0	5	74		27	—	5
68		34	0	5	75		28	—	5
69		33	0	5	76		29	0	5
70	0,2 ccm 9 proz. Peptonlösung	23	—	5	77		30	0	5
71		18	—	5	78		30	0	5
72		21	—	5	79		30	0	5
73		25	—	5	80		31	0	5

Versuch 6 vom 4. III. 1925.

Versuchstier: Weiße Ratte ♂. Vegetabilische Nahrung. Rattenleber.
Temperatur: 37°. Körpergewicht: 190 g. Versuchsorgan: Leber.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
Periode 1.					Periode 2.				
29		39	0	6	42		44	0	6
30		41	0	6	43		44	0	6
31		41	0	6	44		46	0	6
32	0,3 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	13	=	6	45	0,2 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	30	—	6
33		9	=	6	46		31	—	6
34		17	=	6	47		36	—	6
35		26	—	6	48		38	0	6
36		32	—	6	49		41	0	6
37		36	0	6	50		43	+	6
38		38	0	6	51		44	+	6
39		39	0	6					
40		39	0	6					

= bedeutet sehr starke Volumenabnahme.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg

Versuch 7 vom 5. III. 1925.
Versuchstier: Weiße Ratte ♀. Vegetabilische Nahrung. Rattenleber.
Temperatur: 37°. Körpergewicht: 173 g. Versuchsorgan: Leber.

Periode 1.					Periode 2.				
33		64	0	7	45		67	0	7
34		64	0	7	46		66	0	7
35		63	0	7	47		69	0	7
36	0,2 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	21	—	7	48	0,2 ccm 6 proz. Blutegelextrakt	59	—	7
37		19	—	7	49		61	—	7
38		39	—	7	50		63	—	7
39		50	0	7	51		64	0	7
40		55	+	7	52		72	0	7
41		61	+	7	53		72	0	7
42		70	+	7	54		73	0	7
43		72	+	7	55		73	0	7
44									

Versuch 8 vom 5. III. 1925.
Versuchstier: Weiße Ratte ♀ Vegetabilische Nahrung. Rattenleber.
Temperatur: 37°. Körpergewicht: 184 g. Versuchsorgan: Leber.

Periode 1.					Periode 3.				
29		56	0	6	57		37	0	6
30		56	0	6	58		36	0	6
31		54	0	6	59		37	0	6
32	0,2 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	20	—	6	60		37	0	6
33		10	—	6	61	0,2 ccm 9 proz. Peptonlösung	19	—	6
34		17	—	6	62		8	—	6
35		30	0	6	63		9	—	6
36		39	+	6	64		14	—	6
37		46	+	6	65		20	+	6
38		54	+	6	66		28	+	6
39		56	+	6	67		30	+	6
40		56	+	6	68		37	+	6
					69		41	+	6
					70		43	+	6
					71		43	+	6

Periode 2.					Periode 4.				
46		44	0	6	73		41	0	6
47		43	0	6	74		41	0	6
48		44	0	6	75		40	0	6
49	0,2 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	25	—	6	76	0,3 ccm 9 proz. Peptonlösung	16	—	6
50		24	—	6	77		4	—	6
51		24	—	6	78		4	—	6
52		31	—	6	79		5	—	6
53		33	0	6	80		8	—	6
54		34	0	6	81		14	—	6
55		42	0	6	82		20	—	6
56		47	0	6	83		25	—	6
57		48	0	6	84		31	0	6
58		48	0	6	85		42	0	6
					86		43	0	6
					87		43	0	6

Tabelle 1b.

Versuch 1 vom 27. II. 1925.
Versuchstier: Weiße Ratte ♂. Fleischkost. Rattenleber.
Temperatur: 37°. Körpergewicht: 170 g. Versuchsorgan: Leber.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
Periode 1.					Periode 2.				
30'30"		30	0	7	51		30	0	7
31 30		30	0	7	52		29	0	7
32 30		30	0	7	53		29	0	7
33 30	0,5 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt	13	—	7	54	0,6 ccm 6proz. Blutegelextrakt	15	—	7
34 30		4	—	7	55		9	—	7
35 30		3	—	7	56		18	—	7
36 30		4	—	7	57		21	—	7
37 30		10	—	7	58		24	—	7
38 30		16	0	7	59		31	—	7
39 30		22	0	7	60		34	—	7
40 30		24	+	7	61		38	0	7
41 30		26	+	7	62		43	0	7
42 30		28	+	7	63		42	0	7
43 30		29	+	7	64		41	0	7
44 30		29	+	7					
45 30		29	+	7					

Versuch 2 vom 27. II. 1925.
Versuchstier: Weiße Ratte ♂. Fleischkost. Rattenleber.
Temperatur: 36°. Körpergewicht: 181 g. Versuchsorgan: Leber.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
Periode 1.					Periode 2.				
54		27	0	6	67		24	0	6
55		27	0	6	68		23	0	6
56		26	0	6	69		23	0	6
57	0,5 ccm 6proz. Blutegelextrakt	15	=	6	70	10proz. Krebsmuskelextrakt	11	=	6
58		8	=	6	71		6	=	6
59		16	—	6	72		11	=	6
60		19	—	6	73		14	—	6
61		23	0	6	74		18	—	6
62		25	+	6	75		22	0	6
63		26	+	6	76		22	0	6
64		26	+	6	77		23	0	6
65		26	+	6	78		23	0	6

= bedeutet sehr starke Volumenabnahme.

Periode 3.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
82		23	0	6	89		18	—	6
83		23	0	6	90		21	—	6
84		22	0	6	91		23	0	6
85		22	0	6	92		24	0	6
86	0,3 ccm 9proz. Peptonlösung	16	—	6	93		24	0	6
87		14	—	6	94		24	0	6
88		15	—	6					

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg

Versuch 3 vom 28. II. 1925.
Versuchstier: Weiße Ratte ♀. Fleischkost. Rattenleber.
Temperatur: 37°. Körpergewicht: 192 g. Versuchsorgan: Leber.

Periode 1.					Periode 2.				
11		16	0	3	24		25	0	3
12		16	0	3	25		26	0	3
13		16	0	3	26		27	0	3
14		16	0	3	27	0,4 ccm 6proz. Blutegelextrakt	22	—	3
15	0,3 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt	14	—	3	28		23	—	3
16		6	—	3	29		33	—	3
17		8	—	3	30		34	—	3
18		10	—	3	31		35	0	3
19		10	—	3	32		35	0	3
20		10	—	3	33		36	0	3
21		18	—	3	34		36	0	3
22		22	0	3	35		36	0	3
23		23	0	3					
24		23	0	3					

Periode 3.

40		38	0	3	47		28	—	3
41		38	0	3	48		35	—	3
42		37	0	3	49		39	0	3
43		39	0	3	50		40	0	3
44	0,4 ccm 9proz. Peptonlösung	16	=	3	51		38	0	3
45		10	=	3	52		38	0	3
46		19	—	3					

Versuch 4 vom 28. II. 1925.
Versuchstier: Weiße Ratte ♀. Fleischkost. Rattenleber.
Temperatur: 37°. Körpergewicht: 189 g. Versuchsorgan: Leber.

Periode 1.					Periode 2.				
45		40	0	4	67		33	0	4
46		39	0	4	68		33	0	4
47		39	0	4	69		33	0	4
48		39	0	4	70	0,4 ccm 6proz. Blutegelextrakt	24	=	4
49	0,4 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt	20	=	4	71		24	=	4
50		18	=	4	72		28	—	4
51		23	=	4	73		31	—	4
52		31	—	4	74		30	—	4
53		34	—	4	75		32	0	4
54		39	—	4	76		32	0	4
55		43	0	4	77		32	0	4
56		42	0	4	78		32	0	4
57		42	0	4	79		33	0	4
58		42	0	4	80		33	0	4

= bedeutet sehr starke Volumenabnahme.

Versuch 5 vom 2. III. 1925.

Versuchstier: Weiße Ratte ♂. Fleischkost. Rattenleber.

Temperatur: 37°. Körpergewicht: 193 g. Versuchsorgan: Leber.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
	Periode 1.					Periode 3.			
2		36	0	5	42		54	0	5
3		36	0	5	43		53	0	5
4		35	0	5	44		53	0	5
5	0,3 ccm 9 proz.	16	—	5	45	0,3 ccm 6 proz.	35	—	5
6	Peptonlösung	3	—	5	46	Blutegelextrakt	47	—	5
7		3	—	5	47		52	—	5
8		3	—	5	48		51	—	5
9		4	—	5	49		52	0	5
10		5	—	5	50		52	0	5
11		5	—	5	51		52	0	5
12		7	—	5	52		53	0	5
13		8	0	5	53		53	0	5
14		14	0	5					
15		19	0	5					
16		29	0	5					
17		31	0	5					
18		33	0	5					
	Periode 2.					Periode 4.			
18		38	0	5	61		46	0	5
19		38	0	5	62		46	0	5
20		40	0	5	63		45	0	5
21	0,3 ccm 10 proz.	19	—	5	64		45	0	5
22	Krebsmuskelextrakt	27	—	5	65	0,4 ccm 6 proz.	30	—	5
23		38	—	5	66	Blutegelextrakt	36	—	5
24		40	—	5	67		39	—	5
25		47	—	5	68		41	0	5
26		56	—	5	69		42	0	5
27		66	0	5	70		43	0	5
28		69	0	5	71		44	0	5
29		71	0	5	77		45	0	5
30		70	0	5	73		45	0	5
					Periode 5.				
83		41	0	5	91		39	—	5
84		41	0	5	92		43	0	5
85		42	0	5	93		44	0	5
86	0,5 ccm 6 proz.	24	—	5	94		43	0	5
87	Blutegelextrakt	29	—	5	95		43	0	5
88		34	—	5	96		43	0	5
89		35	—	5	97		43	0	5
90		36	—	5	98		43	0	5

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
Versuch 6 vom 3. III. 1925. Versuchstier: Weiße Ratte ♂. Fleischkost. Rattenleber. Temperatur: 37°. Körpergewicht: 175 g. Versuchsorgan: Leber.									
69		52	0	4	75		54	—	4
70		52	0	4	76		53	0	4
71		53	0	4	77		53	0	4
72	0,4 ccm 9 proz. Peptonlösung	37	—	4	78		52	0	4
73		46	—	4	79		51	0	4
74		51	—	4	80		51	0	4
Versuch 7 vom 4. III. 1925. Versuchstier: Weiße Ratte ♀. Fleischkost. Rattenleber. Temperatur: 36°. Körpergewicht: 188 g. Versuchsorgan: Leber.									
121		30	0	5	128		36	—	5
122		30	0	5	129		36	—	5
123		30	0	5	130		35	0	5
124	0,7 ccm 9 proz. Peptonlösung	26	—	5	131		34	0	5
125		28	—	5	132		34	0	5
126		30	—	5	133		34	0	5
127		37	—	5					

Tabelle 1c. Versuch 1 vom 9. III. 1925. Versuchstier: Meerschweinchen ♀. Gewöhnliche Kost. Meerschweinchenleber. Temperatur: 37°. Körpergewicht: 482 g. Versuchsorgan: Leber.

Periode 1.					Periode 3.				
17		15	0	5	69		25	0	6
18		15	0	5	70		26	0	6
19		15	0	5	71		26	0	6
20	0,4 ccm 6 proz. Blutegelextrakt	11	—	5	72	0,3 ccm 9 proz. Peptonlösung	15	—	6
21		9	—	5	73		15	—	6
22		10	—	5	74		19	—	6
23		11	—	5	75		24	—	6
24		11	—	5	76		27	0	6
25		14	0	5	77		28	0	6
26		15	0	5	78		28	0	6
27		15	0	5	79		28	0	6
28		16	0	5	80		28	0	6
29		16	0	5					
Periode 2.					Periode 4.				
29		15	0	5	77		24	0	6
30		16	0	5	78		25	0	6
31		15	0	5	79		25	0	6
32	0,4 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	11	—	5	80		24	0	6
33		8	—	5	81	0,4 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	13	—	6
34		12	—	5	82		5	—	6
35		12	—	5	83		8	—	6
36		15	0	5	84		11	—	6
37		14	0	5	85		16	—	6
38		14	0	5	86		19	0	6
39		14	0	5	87		20	0	6
40		14	0	5	88		21	0	6
41		14	0	5	89		22	0	6
					90		23	0	6
					91		23	0	6

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg

Versuch 2 vom 9. III. 1925.

Versuchstier: Meerschweinchen ♀. Gewöhnliche Kost. Meerschweinchenleber. Temperatur: 37°. Körpergewicht: 454 g. Versuchsorgan: Leber.

Periode 1.					Periode 2.				
43		17	0	5	61		16	0	5
44		16	0	5	62		15	0	5
45		17	0	5	63		15	0	5
46	0,4 ccm 6proz. Blutegelextrakt	8	—	5	64	0,4 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt	8	—	5
47		6	—	5	65		5	—	5
48		8	—	5	66		6	—	5
49		11	—	5	67		9	0	5
50		13	—	5	68		12	0	5
51		16	—	5	69		16	0	5
52		17	—	5	70		19	0	5
53		18	0	5	71		19	0	5
54		18	0	5	72		19	0	5
55		17	0	5	73		19	0	5
56		18	0	5					
57		17	0	5					

Periode 3.

Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck	Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck
74		17	0	5	81		9	0	5
75		17	0	5	82		12	0	5
76		18	0	5	83		17	+	5
77	0,6 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt	12	—	5	84		19	+	5
78		4	—	5	85		18	+	5
79		4	—	5	86		19	+	5
80		6	0	5	87		18	+	5

Versuch 3 vom 12. III. 1925. Temperatur: 37°. Körpergewicht: 463 g.

Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck	Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck
145		35	0	10	151		21	0	10
146		31	0	10	152		21	0	10
147		31	0	10	153		22	0	10
148	0,8 ccm 9proz. Peptonlösung	13	—	10	154		22	0	10
149		13	—	10	155		23	0	10
150		18	—	10	156		23	0	10

Versuch 4 vom 13. III. 1925. Temperatur: 36°. Körpergewicht: 349 g.

Periode 1.					Periode 2.				
55		34	0	7	75		40	0	7
56		35	0	7	76		40	0	7
57		35	0	7	77		40	0	7
58		36	0	7	78	0,5 ccm 6proz. Blutegelextrakt	13	—	7
59	0,5 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt	16	—	7	79		25	—	7
60		21	—	7	80		40	—	7
61		36	—	7	81		44	—	7
62		40	0	7	82		44	0	7
63		40	0	7	83		43	0	7
64		38	0	7	84		43	0	7
65		36	0	7	85		42	0	7
66		36	0	7	86		42	0	7

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektions-präparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durch-strömungs-druck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektions-präparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durch-strömungs-druck mm Hg

Versuch 5 vom 12. III. 1925.

Versuchstier: Meerschweinchen ♀. Gewöhnliche Kost. Meerschweinchenleber. Körpergewicht: 415 g. Versuchsorgan: Leber.

Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	mm Hg	Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	mm Hg
132		41	0	10	138		42	0	10
133		40	0	10	139		46	0	10
134		40	0	10	140		52	0	10
135	0,8 ccm 6 proz.	17	—	10	141		44	0	10
136	Blutegelextrakt	32	—	10	142		43	0	10
137		38	—	10					

Tabelle 1d.

Versuch 1 vom 10. V. 1925.

Versuchstier: Kaninchen ♂. Gewöhnliche Kost. Kaninchenleber. Temperatur: 37°. Körpergewicht: 1850 g. Versuchsorgan: Leber.

Periode 1.					Periode 2.				
69		53	0	3	89		63	0	3
70		52	0	3	90		64	0	3
71		54	0	3	91		68	0	3
72	0,5 ccm 9 proz.	19	—	3	92	0,6 ccm 6 proz.	41	—	3
73	Peptonlösung	11	—	3	93	Blutegelextrakt	50	—	3
74		18	—0	3	94		58	0	3
75		39	0	3	95		53	0	3
76		48	0	3	96		54	0	3
77		56	0	3	97		53	0	3
78		56	0	3	98		59	0	3
					99		62	0	3

Tabelle 1e.

Versuch 1 vom 1. V. 1925.

Versuchstier: Katze ♂. Gewöhnliche Kost. Katzenleber. Temperatur: 37°. Körpergewicht: 2700 g. Versuchsorgan: Leber.

Periode 1.					Periode 2.				
17		67	0	2	25		68	0	3
18		67	0	2	26		69	0	3
19		69	0	2	27		69	0	3
20	1,2 ccm 10 proz.	51	—	2	28	1,4 ccm 6 proz.	46	—	3
21	Krebsmuskel-	57	—	2	29	Blutegelextrakt	34	—	3
22	extrakt	58	0	2	30		32	—	3
23		63	0	2	31		34	—	3
24		66	0	2	32		36	—	3
25		67	0	2	33		37	—	3
26		68	0	2	34		44	—	3
					35		48	—	3
					36		49	—	3
					37		51	—	3
					38		57	—	3
					39		63	0	3
					40		69	0	3
					41		69	0	3

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
	Periode 3.					Periode 4.			
44		66	0	2	61		59	0	3
45		67	0	2	62		59	0	3
46		67	0	2	63		58	0	3
47	0,7 ccm 9proz. Peptonlösung	55	—	2	64	0,7 ccm 9proz. Peptonlösung	53	—	3
48		57	—	2	65		56	—	3
49		62	—	2	66		59	—	3
50		64	—	2	67		55	0	3
51		65	—	2	68		51	0	3
52		66	—	2	69		51	0	3
53		73	—	2	70		51	0	3
54		75	—	2	71		51	0	3
55		74	—	2					
56		72	—	2					
57		71	0	2					
58		71	0	2					
59		70	0	2					
				Periode 5.					
76		57	0	2	82		56	—	2
77		57	0	2	83		55	—	2
78		60	0	2	84		56	—0	2
79	1,2 ccm 9proz. Peptonlösung	50	—	2	85		56	0	2
80		59	—	2	86		56	0	2
81		55	—	2					

Versuch 2 v. 27. V. 1925. Katze ♀. Körpergewicht 985 g. Junge Katzenleber.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
	Periode 1.					Periode 3.			
7		45	0	3	58		26	0	2
8		43	0	3	59		27	0	2
9		43	0	3	60	2 ccm 50proz. Erdbeerenextrakt	27	0	2
10	2 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt	27	—	3	61		28	—	2
11		35	—0	3	62		19	—	2
12		39	+	3	63		17	—	2
13		41	+	3	64		16	—	2
14		44	+	3	65		17	—	2
15		46	+	3	66		17	0	2
16		46	+	3	67		16	0	2
					68		16	0	2
					69		17	0	2
	Periode 2.					Periode 4.			
16		45	0	3	72		17	+	2
17		47	0	3	73		17	+	2
18		45	0	3	74	2 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt	17	+	2
19	2 ccm 6proz. Blutegelextrakt	22	—	3	75		12	0	2
20		28	—	3	76		9	0	2
21		28	—	3	77		12	+	2
22		28	—	3	78		13	+	2
23		28	—	3	79		14	+	2
24		29	0	3	80		16	+	2
25		31	0	3	81		16	+	2
26		35	0	3	82		17	+	2
27		40	0	3	83		18	+	2
28		43	0	3	84		18	+	2

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
	Periode 5.					Periode 6.			
105		18	0	2	118		15	+	2
106		17	0	2	119		14	+	2
107	2 ccm 6 proz. Blutegelextrakt	18	0	2	120	2 ccm 9 proz. Peptonlösung	13	+	2
108		10	—	2	121		9	—	2
109		7	—	2	122		10	—	2
110		9	—	2	123		11	—	2
111		9	0	2	124		12	0	2
112		11	0	2	125		13	0	2
113		10	0	2	126		14	+	2
114		11	+	2	127		14	+	2
115		11	+	2					
116		12	+	2					
117		13	+	2					
118		15	+	2					

Versuch 3 vom 26. V. 1925.
Versuchstier: Katze ♂. Gewöhnliche Kost. Katzenleber.
Temperatur 37°. Körpergewicht: 2530 g. Versuchsorgan: Leber.

	Periode 1.					Periode 2.			
18		44	0	2	32		34	0	2
19		44	0	2	33		32	0	2
20		44	0	2	34		30	0	2
21	2 ccm 6 proz. Blutegelextrakt	32	—	2	35	2 ccm 50 proz. Erdbeerextrakt	23	—	2
22		33	—	2	36		21	—	2
23		33	—	2	37		17	—	2
24		34	—	2	38		14	—	2
25		34	—	2	39		12	—	2
26		34	0	2	40		13	—	2
					41		13	—	2
				Periode 3.					
46		12	0	2	55		8	—	2
47		12	0	2	56		8	—	2
48	2 ccm 9 proz. Peptonlösung	12	0	2	57		8	—	2
49		10	—	2	58		8	—	2
50		5	—	2	59		8	—	2
51		5	—	2	60		8	—	2
52		6	—	2	61		9	—	2
53		7	—	2	62		8	—	2
54		8	—	2	63		9	—	2

Versuch 4 vom 23. V. 1925.
Versuchstier: Junge Katze ♂. Gewöhnliche Kost. Junge Katzenleber.
Temperatur 37°. Körpergewicht: 800 g. Versuchsorgan: Leber.

15		67	0	3	21		61	—	3
16		67	0	3	22		61	—	3
17		68	0	3	23		64	0	3
18	2 ccm 6 proz. Blutegelextrakt	51	—	3	24		67	0	3
19		56	—	3	25		68	0	3
20		58	—	3					

Versuch 5 vom 23. V. 1925.

Versuchstier: Junge Katze ♀. Gewöhnliche Kost. Junge Katzenleber.

Temperatur: 37°. Körpergewicht: 856 g. Versuchsorgan: Leber.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
72		37	0	2,3	78		38	—	2,3
73		38	0	2,3	79		39	—	2,3
74	2 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt	41	0	2,3	80		42	0	2,3
75		24	—	2,3	81		42	0	2,3
76		25	—	2,3	82		42	0	2,3
77		29	—	2,3					

Versuch 6 vom 27. V. 1925.

Versuchstier: Junge Katze ♀. Gewöhnliche Kost. Junge Katzenleber

Temperatur 37°. Körpergewicht 830 g. Versuchsorgan: Leber.

Periode 1.					Periode 3.				
61		29	0	3	99		17	0	2
62		30	0	3	100		17	0	2
63	2 ccm 6proz. Blutegelextrakt	28	0	3	101	2 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt	17	0	2
64		17	0	3	102		11	0	2
65		16	0	3	103		8	0	2
66		20	0	3	104		12	0	2
67		21	0	3	105		14	0	2
68		19	0	3	106		17	0	2
69		20	0	3	107		18	0	2
70		21	0	3					
71		22	0	3					

Periode 2.					Periode 4.				
78		22	0	3	105		14	0	2
79		22	0	3	106		17	0	2
80	2 ccm Blutegelextrakt	22	0	3	107	2 ccm 9 proz. Peptonlösung	18	0	2
81		11	—	3	108		12	—	2
82		3	0	3	109		6	—	2
83		1	0	3	110		8	0	2
84		1	0	3	111		10	0	2
85		2	0	3	112		12	0	2
86		2	0	3	113		15	0	2
87		3	0	3	114		18	0	2
88		4	0	3					
89		5	0	3					
90		6	0	3					
91		7	0	3					
92		8	0	3					
93		11	0	3					
94		13	0	3					
95		19	0	3					
96		22	0	3					
97		23	0	3					

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg

Versuch 7 vom 29. V. 1925.
Versuchstier: Junge Katze. Gewöhnliche Kost. Junge Katzenleber.
Temperatur: 37°. Körpergewicht: 950 g. Versuchsorgan: Leber.

Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck	Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck
2		33	0	2	9		20	0	2
3		33	0	2	10		24	0	2
4		33	0	2	11		26	0	2
5	2 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	21	—	2	12		29	0	2
6		12	—	2	13		31	0	2
7		16	0	2	14		32	0	2
8		18	0	2	15		33	0	2

Versuch 8 vom 13. V. 1925. Katze ♂. 2750 g. Versuchsorgan: Leber.

Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck	Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck
72		36	0	2	78		39	—	2
73		36	0	2	79		39	—	2
74		37	0	2	80		39	0	2
75	2 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	24	—	2	81		39	0	2
76		26	—	2	82		39	0	2
77		30	—	2	83		39	0	2

Tabelle IIa.

Versuch 1 vom 23. II. 1925.
Versuchstier: Meerschweinchen ♀. Gewöhnliche Kost. Meerschweinchenlunge. Temperatur: 37°. Körpergewicht: 555 g. Versuchsorgan: Lunge.

Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck	Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck
15		15	+	9	20		12	0	9
16		15	+	9	21		12	0	9
17		15	+	9	22		13	0	9
18	0,5 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	14	0	9	23		13	0	9
19		12	0	9	24		14	0	9

Versuch 2 vom 21. II. 1925. Körpergewicht: 392 g.

Periode 1.					Periode 2.				
60,5		29	+	5	76		34	+	7
61,5		29	+	5	77		34	0	7
62,5		29	+	5	78		35	0	7
63,5	0,4 ccm 6 proz. Blutegelextrakt	17	0	5	79	0,3 ccm 9 proz. Peptonlösung	21	—	7
64,5		16	0	5	80		15	—	7
65,5		16	0	5	81		15	—	7
66,5		17	0	5	82		21	—	7
67,5		18	0	5	83		22	—	7
68,5		17	0	5	84		24	—	7
69,5		16	0	5	85		25	—	7
70,5		18	0	5	86		25	—	7
71,5		28	0	5					
72,5		29	+	5					
73,5		29	+	5					

Versuch 3 vom 10. III. 1925.
Versuchstier: Meerschweinchen ♂. Temperatur: 36°. Körpergewicht: 510 g.

Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck	Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck
11		20	0	7	16		7	—	7
12		20	0	7	17		10	—	7
13		20	0	7	18		13	0	7
14	0,2 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	7	—	7	19		17	0	7
15		4	—	7	20		19	0	7

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektions-präparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durch-strömungs-druck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektions-präparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durch-strömungs-druck mm Hg

Versuch 4 vom 11. III. 1925.

Versuchstier: Meerschweinchen ♂. Gewöhnliche Kost. Meerschweinchenlunge. Temperatur: 36°. Körpergewicht: 397 g. Versuchsorgan: Lunge.

Periode 1.					Periode 2.				
5		53	0	9	19		53	0	9
6		53	0	9	20		52	0	9
7		51	0	9	21		52	0	9
8	0,4 ccm 10 proz. Krebsmuskel-extrakt	38	—	9	22	0,4 ccm 6 proz. Blutegelextrakt	36	—	9
9		46	—	9	23		35	—	9
10		45	—	9	24		36	—	9
11		45	—	9	25		40	—	9
12		48	0	9	26		42	0	9
13		52	0	9	27		42	0	9
14		53	0	9	28		45	0	9
15		53	0	9	29		45	0	9

Versuch 5 vom 13. III. 1925.

Versuchstier: Meerschweinchen ♀. Gewöhnliche Kost. Meerschweinchenlunge. Temperatur: 36°. Körpergewicht: 349 g. Versuchsorgan: Lunge.

Periode 1.					Periode 2.				
23		43	0	8	39		49	0	8
24		45	0	8	40		49	0	8
25		48	0	8	41		47	0	8
26	0,3 ccm 10 proz. Krebsmuskel-extrakt	11	—	8	42	0,4 ccm 6 proz. Blutegelextrakt	27	—	8
27		3	—	8	43		13	—	8
28		7	—	8	44		12	—	8
29		11	—	8	45		11	—	8
30		21	—	8	46		11	—	8
31		29	—	8	47		14	—	8
32		37	—	8	48		16	—	8
33		41	—	8	49		22	—	8
34		45	0	8	50		24	0	8
35		56	0	8	51		27	0	8
36		50	0	8	52		30	0	8
					53		45	0	8
					54		49	0	8
					55		49	0	8
					56		49	0	8

Versuch 6 vom 13. III. 1925.

Versuchstier: Meerschweinchen ♀. Gewöhnliche Kost. Meerschweinchenlunge. Temperatur: 36°. Körpergewicht: 471 g. Versuchsorgan: Lunge.

69		19	0	9	75		10	0	9
70		18	0	9	76		12	0	9
71		17	0	9	77		14	0	9
72	0,3 ccm 10 proz. Krebsmuskel-extrakt	7	—	9	78		17	+	9
73		5	—	9	79		18	+	9
74		8	—	9	80		18	+	9

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg

Versuch 7 vom 16. III. 1925.

Versuchstier: Meerschweinchen ♀. Gewöhnliche Kost. Meerschweinchenlunge. Temperatur: 36°. Körpergewicht: 490 g. Versuchsorgan: Lunge.

Zeit	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck	Zeit	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck
43		16	0	7	49		7	0	7
44		16	0	7	50		9	0	7
45		16	0	7	51		10	+	7
46	0,7 ccm 9 proz. Peptonlösung	9	—	7	52		11	+	7
47		5	—	7	53		11	+	7
48		6	—	7	54		12	+	7

Versuch 8 vom 21. IV. 1925.

Versuchstier: Meerschweinchen ♀. Gewöhnliche Kost. Meerschweinchen. Temperatur: 36°. Körpergewicht: 337 g. Versuchsorgan: Lunge.

Periode 1.					Periode 2.				
58		19	0	6	90		17	0	6
59		18	0	6	91		16	0	6
60		19	0	6	92		17	0	6
61	0,3 ccm 6 proz. Blutegelextrakt	15	—	6	93	0,5 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	14	—	6
62		12	—	6	94		10	—	6
63		11	—	6	95		10	—	6
64		13	—	6	96		8	—	6
65		13	—	6	97		10	—	6
66		13	—	6	98		10	—	6
67		14	—	6	99		12	0	6
68		14	0	6	100		12	0	6
69		15	0	6	101		13	0	6
					102		14	0	6
					103		14	0	6
					104		15	0	6

Periode 3.

Zeit	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck	Zeit	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck
109		19	0	6	116		11	0	6
110		19	0	6	117		13	0	6
111		20	0	6	118		14	0	6
112	0,5 ccm 9 proz. Peptonlösung	13	—	6	119		14	+	6
113		7	—	6	120		15	+	6
114		7	—	6	121		15	+	6
115		10	0	6	122		15	+	6

Versuch 9 vom 22. IV. 1925.

Versuchstier: Meerschweinchen ♂. Gewöhnliche Kost. Meerschweinchenlunge. Temperatur: 36°. Körpergewicht: 610 g. Versuchsorgan: Lunge.

Zeit	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck	Zeit	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck
18		41	0	6	23		37	—	6
19		41	0	6	24		39	—	6
20		41	0	6	25		41	0	6
21	0,2 ccm 6 proz. Blutegelextrakt	38	—	6	26		42	0	6
22		37	—	6					

Versuch 10 vom 28. IV. 1925.

Versuchstier: Meerschweinchen ♂. Gewöhnliche Kost. Meerschweinchenlunge. Temperatur: 36⁰. Körpergewicht: 500 g. Versuchsorgan: Lunge.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
	Periode 1.					Periode 2.			
38		49	0	7	47		25	0	7
39		49	0	7	48		25	0	7
40		49	0	7	49	0,5 ccm 9proz.	26	0	7
41	0.6 ccm 6proz.	29	—	7	50	Peptonlösung	13	—	7
42	Blutegelextrakt	27	—	7	51		7	—	7
43		25	—	7	52		5	—	7
44		25	—	7	53		6	—	7
45		26	0	7	54		6	—	7
46		26	0	7	55		7	—	7
47		26	0	7	56		8	—	7
48		27	0	7	57		9	—	7
					58		11	—	7
					59		12	—	7
					60		14	—	7
					61		16	—	7
					62		17	—	7
					63		20	—	7

Versuch 11 vom 6. V. 1925.

Versuchstier: Meerschweinchen ♀. Gewöhnliche Kost. Meerschweinchenlunge. Temperatur: 36⁰. Körpergewicht: 341 g. Versuchsorgan: Lunge.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
80		26	0	6	85		21	—	6
81		26	0	6	86		22	0	6
82		26	0	6	87		22	0	6
83	0.5 ccm 9proz.	21	—	6	88		23	0	6
84	Peptonlösung	18	—	6					

Versuch 12 vom 5. V. 1925.

Versuchstier: Meerschweinchen ♀. Gewöhnliche Kost. Meerschweinchenlunge. Temperatur: 36⁰. Körpergewicht: 405 g. Versuchsorgan: Lunge.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
90		17	0	6	98		10	—	6
91		16	0	6	99		12	—	6
92	0,5 ccm 10 proz.	17	0	6	100		12	—	6
93	Krebsmuskel-	14	—	6	101		13	0	6
94	extrakt	10	—	6	102		14	0	6
95		10	—	6	103		14	0	6
96		8	—	6	104		15	0	6
97		10	—	6					

Tabelle IIb.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg

Versuch 1 vom 19. V. 1925.
Versuchstier: Ratte ♀. Gewöhnliche Kost. Rattenlunge.
Temperatur: 36°. Körpergewicht: 260 g. Versuchsorgan: Lunge.

Periode 1.					Periode 2.				
13		14	0	5	37		12	0	5
14		15	0	5	38		12	0	5
15		15	0	5	39		12	0	5
16	0,4 ccm 6proz. Blutegelextrakt	9	—	5	40	0,2 ccm 9proz. Peptonlösung	8	—	5
17		8	—	5	41		5	—	5
18		10	—	5	42		6	—	5
19		11	—	5	43		6	—	5
20		12	—	5	44		7	—	5
21		13	—	5	45		8	—	5
					46		8	—	5
					47		8	—	5
					48		9	—	5
					49		10	—	5
					50		10	—	5

Versuch 2 vom 20. V. 1925.
Versuchstier: Ratte ♂. Gewöhnliche Kost. Rattenlunge.
Temperatur: 36°. Körpergewicht: 253 g. Versuchsorgan: Lunge.

Periode 1.					Periode 2.				
3		12	0	7	38		14	0	7
4		12	0	7	39		13	0	7
5		12	0	7	40		13	0	7
6	0,4 ccm 6proz. Blutegelextrakt	7	—	7	41	0,3 ccm 9proz. Peptonlösung	10	0	7
7		6	—	7	42		10	0	7
8		6	—	7	43		11	0	7
9		7	—	7	44		13	0	7
10		8	—	7	45		13	0	7
11		9	—	7					
12		9	—	7					
13		10	—	7					
14		9	—	7					

Tabelle IIc.

Versuch 1 vom 2. IV. 1925.
Versuchstier: Katze ♀. Gewöhnliche Kost. Katzenlunge.
Temperatur: 36°. Körpergewicht: 2540 g. Versuchsorgan: Lunge.

43		20	+	7	49		19	+	7
44		20	+	7	50		21	+	7
45		19	+	7	51		23	+	7
46		12	0	7	52		21	+	7
47	0,9 ccm 10proz. Krebsmuskelextrakt	8	0	7	53		21	+	7
48		11	0	7					

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg

Versuch 2 vom 28. V. 1925.
Versuchstier: Katze ♂. Gewöhnliche Kost. Katzenlunge.
Temperatur: 36°. Körpergewicht: 2950 g. Versuchsorgan: Lunge.

Periode 1.					Periode 2.				
12		22	0	6	34		20	0	6
13		22	0	6	35		21	0	6
14		22	0	6	36		23	0	6
15	1,5 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	9	—	6	37	2 ccm 6 proz. Blutegelextrakt	15	—	6
16		4	—	6	38		12	—	6
17		3	—	6	39		13	0	6
18		4	—	6	40		16	0	6
19		5	—	6	41		18	0	6
20		6	0	6	42		20	0	6
21		9	0	6	43		24	0	6
22		12	0	6					
23		16	0	6					
24		19	0	6					
25		22	0	6					

Periode 3.

77		31	0	6	82		16	—	6
78		31	0	6	83		17	—	6
79		30	0	6	84		15	0	6
80	2 ccm 9 proz. Peptonlösung	20	—	6	85		16	0	6
81		18	—	6	86		18	0	6

Tabelle IIIa.

Versuch vom 20. V. 1925.
Versuchstier: Katze ♂. Gewöhnliche Kost. Linksseitige Katzenniere.
Temperatur: 36°. Körpergewicht: 2480 g. Versuchsorgan: Niere.

Periode 1.					Periode 2.				
3		14	0	730	11		13	0	730
4		15	0	730	12		13	0	730
5		12	0	730	13		14	0	730
6	0,5 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	12	0	730	14	1,2 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	14	0	730
7		12	0	730	15		13	+	730
8		13	0	730	16		14	+	730
9		13	0	730	17		14	+	730
10		13	0	730	18		14	+	730

Tabelle IIIb.

Versuch 1 vom 12. III. 1925.
Versuchstier: Kaninchen. Gewöhnliche Kost. Linksseitige Kaninchenniere.
Temperatur: 36°. Körpergewicht: 2850 g. Versuchsorgan: Niere.

Periode 1.

61		18	0	31	67		21	—	31
62		19	0	31	68		22	—	31
63		19	0	31	69		23	—	31
64	0,4 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	18	—	31	70		23	—	31
65		18	—	31	71		24	—	31
66		19	—	31					

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg	Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
	Periode 2.					Periode 3.			
7		12	0	31	20		11	0	35
8		11	0	31	21		11	0	35
9		11	0	31	22	0,3 ccm 6 proz. Blutegelextrakt	10	0	35
10	0.3 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	12	0	31	23		10	—	35
11		11	0	31	24		9	—	35
12		11	0	31	25		9	—	35
13		11	0	31	26		10	—	35
14		12	0	31	27		10	—	35
15		12	0	31	28		9	0	35
					29		10	0	35
					30		11	0	35

Versuch 2 vom 19. III. 1925.

Versuchstier: Kaninchen ♂. Gewöhnliche Kost. Rechtsseitige Kaninchenniere. Temperatur: 36°. Körpergewicht: 2850 g. Versuchsorgan: Niere.

Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck	Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck
39		9	0	30	44		9	—	30
40		10	0	30	45		9	0	30
41		10	0	30	46		10	0	30
42	0,4 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	9	—	30	47		10	0	30
43		9	—	30	48		10	0	30

Versuch 3 vom 20. III. 1925.

Versuchstier: Kaninchen ♀. Gewöhnliche Kost. Linksseitige Kaninchenniere. Temperatur: 37°. Körpergewicht: 2730 g. Versuchsorgan: Niere.

Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck	Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck
13		5	0	31	18		5	—	31
14		5	0	31	19		4	—	31
15		5	0	31	20		5	0	31
16	10 proz. Krebsmuskelextrakt	4	—	31	21		5	0	31
17		5	—	31	22		5	0	31

Versuch 4 vom 21. III. 1925.

Versuchstier: Kaninchen ♂. Gewöhnliche Kost. Linksseitige Kaninchenniere. Temperatur: 36°. Körpergewicht: 2030 g. Versuchsorgan: Niere.

Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck	Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl	Organvol.	Druck
63		5	0	33	72		5	—	33
64		4	0	33	73		5	—	33
65		5	0	33	74		5	—	33
66	1 ccm 6 proz. Blutegelextrakt	6	—	33	75		5	—	33
67		4	—	33	76		5	—	33
68		5	—	33	77		5	—	33
69		5	—	33	78		5	—	33
70		5	—	33	79		5	—	33
71		5	—	33	80		5	—	33

Versuch 5 vom 24. III. 1925.

Versuchstier: Kaninchen ♂. Gewöhnliche Kost. Linksseitige Kaninchenniere. Temperatur: 37°. Körpergewicht: 2700 g. Versuchsorgan: Niere.

Periode 1 (rechte Niere).

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
3		3	0	34
4		3	0	34
5	0,2 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	3	0	34
6		3	0	34
7		2	0	34
8		1	0	34
9		2	0	34
10		2	0	34
11		2	0	34
12		1	0	34
13		2	0	34
14		1	0	34
15		2	0	34
16		2	0	34
17		1	0	34
18		2	0	34
19		2	0	34
20		2	0	34
21		2	0	34
22		2	0	34
23		3	0	34
24		2	0	34
25		3	0	34

Periode 2 (linke Niere).

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
48		3	0	34
49	1,5 ccm 6 proz. Blutegelextrakt	4	0	34
50		4	0	34
51		3	0	34
52		4	0	34
53		3	0	34
54		3	0	34
55		3	0	34
56		3	0	34
57		3	0	34
58		4	0	34
59		4	0	34

Versuch 6 vom 5. V. 1925.

Versuchstier: Kaninchen ♀. Gewöhnliche Kost. Linksseitige Kaninchenniere. Temperatur: 36°. Körpergewicht: 2200 g. Versuchsorgan: Niere.

Periode 1.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
11		42	0	35
12		41	0	35
13		41	0	35
14	0,6 ccm 10 proz. Krebsmuskelextrakt	40	0	35
15		41	0	35
16		30	0	35
17		30	0	35
18		31	0	35

Periode 2.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
26		31	0	35
27		29	0	35
28		28	0	35
29	0,5 ccm 6 proz. Blutegelextrakt	29	0	35
30		27	0	35
31		25	0	35
32		24	0	35
33		27	0	35

Periode 3.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
33		27	0	35
34		26	0	35
35		27	0	35
36	0,5 ccm 9 proz. Peptonlösung	34	0	35
37		34	0	35
38		32	—	35
39		32	—	35

Periode 4.

Zeit nach dem Tode des Tieres Min.	Injektionspräparat	Tropfenzahl in 1 Min.	Zunahme oder Abnahme des Organvol.	Durchströmungsdruck mm Hg
47		26	0	35
48		26	0	35
49		26	0	35
50	0,6 ccm 9 proz. Peptonlösung	36	0	35
51		36	0	35
52		34	+	35
53		34	+	35
54		35	+	35
55		36	+	35
56		35	+	35

Untersuchungen über die Eigenschaften und die Entstehung der Lymphe.

XI. Mitteilung:

Die Beeinflussung der Lebertätigkeit durch die spezifische Lymphagoga, nachgewiesen an der Acetonbildung.

Von

Yukujiro Abe.

[Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern (Hallerianum).]

(Eingegangen am 4. September 1925.)

Sowohl in meinen vorstehenden Untersuchungen wie in den früheren Arbeiten des Berner physiologischen Instituts ist mehrfach davon die Rede gewesen, daß die *Heidenhain*schen Lymphagoga bzw. die *Asher*schen Lebergifte die Tätigkeit der Leber beeinflussen.

Nach der Theorie von *Asher* über die Bildung der Lymphe ist es diese Erweckung bzw. diese Erhöhung der Lebertätigkeit, welche die primäre Ursache für die gesteigerte Lymphbildung nach Injektion der spezifischen Lymphagoga bzw. der Lebergifte abgibt. Da die Beziehungen zwischen Lebertätigkeit und Lymphbildung ein hervorragendes Interesse für das Verständnis der Lymphbildung besitzen, verlohnt es sich, den älteren Beweisen für diese Beziehungen neue hinzuzufügen. Um so dringlicher sind neue Beweise erwünscht, als neuerdings Ansichten laut geworden sind, welche die Lymphbildung nach Injektion von spezifischen Lymphagoga durch mechanische Momente der Änderungen des Leberkreislaufs erklären wollen. In meinen voraufgehenden Mitteilungen ist wiederholt von solchen Erklärungsversuchen die Rede gewesen. Aus den gesagten Gründen folgte ich der Anregung von Prof. *Asher*, um mit Hilfe eines neuen Beweisverfahrens zu zeigen, daß die spezifischen Lymphagoga die Tätigkeit der Leber anregen und erhöhen.

Der Gedankengang der neuen Beweisführung war der, daß als Erkennungsmerkmal der Lebertätigkeit ein unzweifelhaftes und exakt

nachweisbares Beispiel von Lebertätigkeit gewählt werden müsse, um eine solche Tätigkeit vor und nach der Injektion von spezifischen Lymphagoga oder Lebergiften zu prüfen.

Durch die Untersuchungen von *Embden* und seinen Mitarbeitern, sowie diejenigen von *Fischler* ist gezeigt worden, daß Aceton in der Leber gebildet wird. Die Acetonbildung ist demnach ein gesicherter Fall von Lebertätigkeit. Ob sie eine spezifische Lebertätigkeit ist, will ich an dieser Stelle unerörtert lassen, sie ist jedenfalls eine exakt nachweisbare Tätigkeitsäußerung der Leber, sowohl im Tiere selbst, wie auch beim überlebenden Tiere. Von dieser Erkenntnis wurde methodisch in den Arbeiten des Berner physiologischen Instituts Gebrauch gemacht. Die letzte derartige Arbeit war diejenige von *Kobayashi*[1]), der zeigen konnte, daß Zusatz von Milzextrakt zur Flüssigkeit, welche die Leber durchströmt, die Menge des gebildeten Acetons wesentlich erhöht, womit ein neuer Nachweis geliefert worden war, daß die Milz einen aktivierenden Einfluß auf die Tätigkeit der Leber ausübt. Der Versuchsplan bestand darin, daß die überlebenden Lebern von Ratten und Meerschweinchen mit einer Blutlösung durchströmt wurden, welche buttersaures Natrium enthielt, damit aus diesem buttersauren Natrium Aceton gebildet würde. Die Acetonbildung sollte einmal ohne und einmal mit Zusatz von lymphagogen Substanzen geprüft werden.

Zur Ausführung der Versuche wurden die Tiere durch Kopfschlag getötet. Die Bauchhöhle wird rasch geöffnet, die Eingeweide werden nach der linken Seite umgeschoben und die Vena cava inferior im unteren Teile unterbunden. Dann wird die Kanüle in die Vena porta eingeführt und fixiert. Die beiden Kanülen werden luftfrei vor der Einführung in die Venen mit Kochsalzlösung gefüllt. Das hergestellte Präparat wird in ein extra für diesen Versuch konstruiertes Wasserbad eingelegt. Das Wasserbad ist zur Hälfte mit Wasser gefüllt, oberhalb des Wasserniveaus liegt auf einer Holzplatte das Präparat. Das Wasserbad wird mit einem Deckel zugedeckt und die Temperatur desselben mit Hilfe eines Mikrobunsenbrenners immer auf 36 bis 38° gehalten. Über dem Wasserbade befand sich zur Warmhaltung des Präparates außerdem noch eine elektrische Glühlampe. In der vorderen und hinteren Wand des Wasserbades, das Kastenform hatte, wurde je ein Loch für die Kanüle gebohrt, für die abführende und die zuführende. Die in Vena porta eingeführte Kanüle wurde mit dem Drucksystem verbunden, wie es zu Perfusionsversuchen in der Leber im Berner physiologischen Institut schon mannigfach benutzt und auch beschrieben worden ist, z. B. in der Arbeit von *Abelin*[2]). In dem Drucksystem werden periodisch durch den Atmungsapparat (Atmungsapparat nach *Kronecker* mit Wasserstrahlgebläse und Schaukeltrog) Druckschwankungen erzeugt, welche zur Nachahmung des Pulses dienen. Die in die Leber einfließende Lösung ging erst durch ein Schlangenrohr, um dort vorgewärmt zu werden. Die Kanüle in der Vena cava inferior war mit einem gebogenen Abflußrohr

[1]) *M. Kobayashi*, diese Zeitschr. **151**, 491, 1924.
[2]) *J. Abelin*, ebendaselbst **74**, 248, 1916.

verbunden, welches über einem graduierten Sammelgefäß stand, in welches die durchströmende Flüssigkeit einlief. Zuerst wurde die Blutlösung ohne Lymphagogum durchströmt. Sodann folgte eine Periode unter Zusatz von Lymphagogum und schließlich wieder eine Periode von Durchströmung von Blut ohne Lymphagogum. Damit keine Reste der vorherigen Durchströmungsflüssigkeit im System zurückbleiben, wurden nach jeder Durchströmung die beiden Kanülen des Drucksystems und das Abflußrohr gereinigt und dann erst die neue Durchströmungsflüssigkeit eingeführt. Um auch die letzten Spuren von älterer Flüssigkeit zu entfernen, wurden die ersten 50 Tropfen zu Beginn einer neuen Durchströmung weggeworfen und nicht zur Analyse benutzt.

Die Menge des Acetons, welches gebildet wurde, habe ich nach *Engfeldt*[1]) bestimmt. Doch habe ich das Verfahren etwas modifiziert. Erstens habe ich statt einer Vorlageflasche immer zwei benutzt. In allen Versuchen war auch in der zweiten Vorlageflasche Aceton vorhanden, wenn auch in viel kleineren Mengen. Ich gebe Zahlen aus einigen Versuchen:

Vorlageflasche 1: 3,12 mg, Vorlageflasche 2: 0,75 mg (auf den Mittelwert berechnet).

2. Die Destillation habe ich länger als *Engfeldt* ausgeführt, statt 25 35 Minuten und dabei die ersten 15 Minuten (die ersten 5 Minuten schwache Saugwirkung, dann 5 Minuten mäßige Saugwirkung und die letzten 5 Minuten sehr starke Saugwirkung) ohne den Destillationskolben zu erhitzen, und die letzten 20 Minuten mit Erhitzen (schwache Saugwirkung).

Beide Vorlageflaschen kommen in ein Gefäß mit kaltem Wasser bei etwa 10°.

Es wurden folgende Lösungen auf Acetongehalt analysiert:

1. Die Blutlösung, die keine Lymphagoga enthält, vor der Durchströmung durch die Leber. Der Gehalt schwankte in Milligrammen pro 100 ccm Blut, im Mittelwert berechnet 2,38.

2. Gleiche Blutlösung nach der Durchströmung durch die Leber (erste Durchströmung 3,35 als Mittelwert berechnet).

Die Differenz der Werte der beiden Lösungen ergibt die Acetonbildung der Leber.

3. Die Blutlösung, die die Lymphagoga enthält, vor der Durchströmung durch die Leber; der Gehalt schwankte in Milligrammen pro 100 ccm Blut, als Mittelwert berechnet 2,76.

4. Vorige Blutlösung (3) nach der Durchströmung durch die Leber 4,69. Zweite Durchströmung (die Differenz der Werte der beiden Lösungen ergibt die Acetonbildung der Leber unter dem Einfluß der Lymphagoga).

5. Die Blutlösung, die keine Lymphagoga enthält (Blutlösung 1), nach der Durchströmung durch die Leber (dritte Durchströmung) 3,76.

Die Wertdifferenz der beiden Lösungen (Lösung 5 und 1) ergibt die Acetonbildung der Leber bei der dritten Durchströmung.

Da die Temperatur die Acetonbildung im Blute schon bei bloßem Stehen ohne Durchströmung durch die Leber beeinflußt, so wurden

---

[1]) Mikromethode von *Ludwig Pincussen* 1923, S. 77.

alle Lösungen sofort nach Zugabe des buttersauren Natriums in das Wasserbad bei 37° gebracht. Wurde die Lösung für die Durchströmung benutzt, so geschah diese Durchströmung auch unter 37°, und die durchströmende Flüssigkeit wurde ebenfalls sofort nach der Durchströmung im Wasserbade bei 37° aufbewahrt. Im ganzen verblieben alle Lösungen 1 Stunde im Wasserbade unter 37°. Dann wurden alle Lösungen gleichzeitig in ein Gefäß mit Eis gestellt und nach kurzer Zeit auf Acetongehalt analysiert. Daß mit steigender Temperatur Acetonbildung nach Zusatz von buttersaurem Natrium im Blute auch ohne Beteiligung der Leber wächst, beweisen folgende von mir angestellte Versuche.

Mittelwert bei 36° . . . . . 2,61 mg pro 100 ccm Blutlösung
„ „ 37° . . . . . 3,17 „ „ 100 „ „
„ „ 38° . . . . . 3,84 „ „ 100 „ „

Es wurden auch sechs Versuche ausgeführt, wo der Einfluß der Lymphagoga auf Aceton beim „zweimaligen Durchströmen durch die Leber“ untersucht wurde. Die Versuche verliefen in folgender Weise.

Zuerst wurde die Lösung ohne Lymphagoga zur Durchströmung durch die Leber benutzt. Aus den Differenzen des Acetongehaltes der Blutlösung vor und nach dem Durchströmen ergibt sich die Acetonbildung bei „erstem Durchströmen“. Dann wird diese schon einmal die Leber passierte Blutlösung zur zweiten Durchströmung benutzt und wieder auf Acetongehalt analysiert. Durch einfaches Subtrahieren läßt sich die Acetonbildung beim zweiten Durchströmen feststellen. In gleicher Weise wird die Bildung des Acetons bei der ersten und zweiten Durchströmung mit Lymphagoga bestimmt.

In der ersten Versuchsreihe wurde die Acetonbildung unter dem Einfluß des Krebsmuskelextraktes als Lymphagogum untersucht. Diese Versuchsreihe wurde an Ratten und an Meerschweinchen angestellt. Ein Teil der Versuche verlief so, daß in einer Vor- und in einer Nachperiode Normalflüssigkeit mit buttersaurem Natrium, in der Zwischenperiode aber dieselbe Flüssigkeit unter Zusatz von Lymphagogum durch die Leber durchströmt wurde. In einigen Fällen wurde nur eine Vorperiode ohne Lymphagogum und eine Periode mit Lymphagogum aus technischen Gründen durchgeführt.

Das Ergebnis dieser Reihe ist ein sehr bezeichnendes und eindeutiges. Ausnahmslos ist in derjenigen Blutlösung, welche das Lymphagogum enthält, die Acetonbildung außerordentlich gesteigert. Prozentisch ausgedrückt, finden wir Werte bis zu 847 und 766. Diese größten Werte wurden bei Meerschweinchen beobachtet. Bei der Ratte finden sich prozentische Steigerungen der Acetonbildung unter dem Einfluß der Lymphagoga von 234 und 159. Die Steigerung hält auch in einigen

Versuchen in der Nachperiode an, doch ist in jedem einzelnen Falle die Rückkehr zur Norm unverkennbar. Die hier berichtete Versuchsreihe zeigt mit aller Deutlichkeit und Sicherheit, daß unter dem Einfluß des Lymphagogum die Leber in höherem Maße befähigt wird, die Acetonbildung aus buttersaurem Natrium zu bewerkstelligen. Hieraus folgt, daß der Nachweis, daß ein spezifisches Lymphagogum, wie es Krebsmuskelextrakt ist, die Tätigkeit der Leber und zwar eine chemische Tätigkeit der Leber fördert, schon durch diese erste Versuchsreihe geliefert ist.

In der nächsten Versuchsreihe teile ich die Versuche mit, welche an Ratten- und Meerschweinchenlebern angestellt wurden, und wo in der Hauptversuchsperiode als Lymphagogum Blutegelextrakt zugesetzt wurde. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe teile ich in Tabelle II mit.

Diese Tabelle umfaßt im ganzen neun Versuche. Wiederum zeigt sich die starke Vermehrung der Acetonbildung unter dem Einfluß des Zusatzes von Blutegelextrakt zur Durchströmungsflüssigkeit. Bei der Ratte sind die Steigerungen 253, 144 und 66 Proz. Bei Meerschweinchen ist in einem einzigen Versuch in der Vorperiode die Steigerung nur 11 Proz., um sich in der Nachperiode auf 77 Proz. zu heben. In den vier anderen Versuchen betragen die prozentischen Steigerungen der Acetonbildung 164, 393, 161 und 205 Proz. Diese Steigerungen der Acetonbildung sind so außerordentlich groß, daß sie weit über die Größenordnung der Fehlerquellen der mikrochemischen Bestimmungen hinausgehen. Diese Reihe ist ein neuer Beweis dafür, daß unter dem Einfluß von Blutegelextrakt, also eines spezifischen Lymphagogum, die Tätigkeit der Leber, bemessen an einer chemischen Arbeit, ganz wesentlich erhöht wird.

In der nächsten Versuchsreihe folgen die Versuche, in denen der Einfluß von Pepton auf die Acetonbildung in der Leber untersucht wurde. Auch in dieser Reihe wurden weiße Ratten und Meerschweinchen verwandt. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle III mitgeteilt.

In Betracht kommen die Versuche 2 bis 6. In allen diesen Versuchen findet sich eine wesentliche Steigerung der Acetonbildung unter dem Einfluß von Pepton. Die prozentischen Vermehrungen betragen 95, 176, 68 und 34 Proz. In zwei von den Versuchen sinkt in der Nachperiode die Acetonbildung unter den Normalwert der Anfangsperiode. Es muß dahingestellt bleiben, ob darin der Ausdruck einer beginnenden Schädigung der Leber zu sehen ist, denn Pepton ist, wie so zahlreiche Erfahrungen aus dem Berner physiologischen Institut gezeigt haben, ein sehr starkes Lebergift. Auch diese Reihe zeigt die Wirksamkeit des Peptons auf die Lebertätigkeit.

Tabelle I. Acetonbildung. Krebsmuskelextrakt als Lymphagogum.

Nr. des Versuchs	Datum	Periode*)	Dauer der Durchströmung in Min.	Menge der Durchströmung in ccm	Druck bei d. Durchströmung in mm Hg	Temperatur °C	Durchströmungsflussigkeit **)	Acetonbildung pro 100 ccm Durchströmungsflüssigkeit	+ Proz. Zunahme od. Abnahme gegenüber der Acetonbildung ohne Lymphagoga „a", erste Durchströmung	Versuchstier
1	19. V.	1	9	14	31	35	a) 85 ccm Blutstammlösung + 15 ccm NaCl	0,64	0	Weiße Ratte
		2	10	13	31	35	b) 85 „ „ + 15 „ Krebsmuskelextrakt	1,66	+ 159	
		3	8	13	31	35	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	1,31	+ 104	
2	22. V.	1	7	13	33	35	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	0,66	0	Weiße Ratte
		2	11	15	34	35	b) 85 „ „ + 15 „ Krebsmuskelextrakt	1,49	+ 125	
		3	5	10	33	35	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	0,77	+ 16	
3	5. VI.	1	4	15	32	36	a) 85 „ Blutlösung + 15 ccm NaCl	1,33	0	Weiße Ratte (Schwangerschaft)
		2	5	15	32	36	b) 85 „ „ + 15 „ Krebsmuskelextrakt	1,79	+ 35	
		3	5	15	32	36	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	1,48	+ 11	
4	27. V.	1	6	15	32	37	a) 85 ccm Blutstammlösung + 15 ccm NaCl	1,44	0	Weiße Ratte (Schwangerschaft)
		2	12	15	32	37	b) 85 „ „ + 15 „ Krebsmuskelextrakt	1,89	+ 31	
		3	13	15	33	37	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	1,59	+ 10	
5	23. III.	1	20	35	30	36	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	0,46	0	Weiße Ratte
		2	18	30	31	36	b) 85 „ „ + 15 „ Krebsmuskelextrakt	1,54	+ 234	
6	27. III.	1	18	30	31	37	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	0,82	0	Weiße Ratte
		2	20	30	29	37	b) 85 „ „ + 15 „ Krebsmuskelextrakt	1,58	+ 92	
7	6. IV.	1	10	26	32	36	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	0,67	0	
		2	12	24	31	36	b) 85 „ „ + 15 „ Krebsmuskelextrakt	1,84	+ 174	
8	3. V.	1	12	21	34	38	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	0,82	0	Meerschweinchen
		2	11	21	36	38	b) 85 „ „ + 15 „ Krebsmuskelextrakt	2,31	+ 181	
		3	10	20	34	38	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	1,59	+ 93	
9	30. V.	1	10	17	33	37	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	0,36	0	Meerschweinchen
		2	15	17	33	37	b) 85 „ „ + 15 „ Krebsmuskelextrakt	3,12	+ 766	
		3	15	19	33	37	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	2,05	+ 469	
10	4. V.	1	7	19	33	36	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	0,21	0	Meerschweinchen
		2	9	20	32	36	b) 85 „ „ + 15 „ Krebsmuskelextrakt	1,99	+ 847	
		3	17	15	32	36	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	1,33	+ 533	

*) Die Versuche verlaufen zeitlich immer so, daß zuerst Periode 1, dann 2 und endlich 3 ausgeführt wurde.
**) Die Blutstammlösung: 100 ccm 1 proz. Na-Citrat-Blut + 100 ccm 0,85 proz. NaCl + 2 g buttersaures Na

Tabelle II. Acetonbildung. Blutegelextrakt als Lymphagogum.

Nr. des Versuchs	Datum	Periode*)	Dauer der Durchströmung in Min.	Menge der Durchströmung in ccm	Druck bei d. Durchströmung in mg Hg	Temperatur °C	Durchströmungsflüssigkeit **)	Acetonbildung pro 100 ccm Durchströmungsflüssigkeit	+ Proz. Zunahme od. Abnahme gegenüber der Acetonbildung ohne Lymphagoga „a", erste Durchströmung	Versuchstier
1	10. V.	1	8	13	23	37	a) 85 ccm Blutlösung + 15 ccm NaCl	0,92	0	Weiße Ratte
		2	9	15	25	37	b) 85 „ „ + 15 „ Blutegelextrakt	2,81	+ 255	
		3	11	15	24	37	c) 85 „ „ + 15 „ NaCl	1,22	+ 32	
2	24. IV.	1	15	15	30	37	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	0,89	0	Weiße Ratte
		2	22	15	32	37	b) 85 „ „ + 15 „ Blutegelextrakt	2,18	+ 144	
		3	21	15	31	37	c) 85 „ „ + 15 „ NaCl	2,16	+ 142	
3	12. V.	1	11	15	24	38	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	1,64	0	Weiße Ratte (Schwangerschaft)
		2	12	15	27	38	b) 85 „ „ + 15 „ Blutegelextrakt	2,89	+ 76	
		3	13	15	27	38	c) 85 „ „ + 15 „ NaCl	2,31	+ 40	
4	21. III.	1	10	10	42	37	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	1,11	0	Meerschweinchen
		2	12	13	40	37	b) 85 „ „ + 15 „ Blutegelextrakt	2,38	+ 114	
		3	13	9	41	37	c) 85 „ „ + 15 „ NaCl	1,67	+ 50	
5	22. IV.	1	9	16	48	38	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	1,13	0	Meerschweinchen
		2	11	26	45	38	b) 85 „ „ + 15 „ Blutegelextrakt	2,38	+ 110	
		3	7	12	45	38	c) 85 „ „ + 15 „ NaCl	2,00	+ 77	
6	23. IV.	1	21	30	34	37	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	0,85	0	Meerschweinchen
		2	25	35	34	37	b) 85 „ „ + 15 „ Blutegelextrakt	2,25	+ 164	
		3	8	10	34	37	c) 85 „ „ + 15 „ NaCl	1,43	+ 68	
7	6. III.	1	22	34	33	36	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	0,30	0	Meerschweinchen
		2	16	30	34	36	b) 85 „ „ + 15 „ Blutegelextrakt	1,48	+ 393	
8	12. III.	1	18	32	32	36	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	0,60	0	Meerschweinchen
		2	21	36	33	36	b) 85 „ „ + 15 „ Blutegelextrakt	1,57	+ 161	
9	17. III.	1	26	38	34	36	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	0,69	0	Meerschweinchen
		2	19	30	33	36	b) 85 „ „ + 15 „ Blutegelextrakt	2,11	+ 205	

*) Die Versuche verlaufen zeitlich immer so, daß zuerst Versuch 1, dann 2 und endlich 3 ausgeführt wird.
**) Die Blutlösung: 100 ccm 1proz. Na-Citrat-Blut + 100 ccm 0,85proz. NaCl + 2 g buttersaures Na.

Tabelle III. Acetonbildung. Peptonlösung als Lymphagogum.

Nr. des Versuches	Datum	Periode*)	Dauer der Durchströmung in Min.	Menge der Durchströmung in ccm	Druck bei d. Durchströmung in mg Hg	Temperatur °C	Durchströmungsflüssigkeit**)	Acetonbildung pro 100 ccm Durchströmungsflüssigkeit	± Proz. Zunahme od. Abnahme gegenüber der Acetonbildung ohne Lymphagoga „a", erste Durchströmung	Versuchstier
1	27. IV.	1	21	16	31	37	a) 85 ccm Blutlösung + 15 ccm NaCl	0,71	0	Weiße Ratte
		2	30	17	31	37	b) 85 „ „ + 15 „ Peptonlösung	2,58	+ 263	
		3	10	20	32	37	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	0,87	+ 22	
2	28. IV.	1	20	15	33	38	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	1,03	0	Weiße Ratte
		2	18	15	34	38	b) 85 „ „ + 15 „ Peptonlösung	2,01	+ 95	
		3	11	15	33	38	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	1,39	+ 34	
3	7. V.	1	11	15	33	38	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	1,03	0	Weiße Ratte
		2	14	15	34	38	b) 85 „ „ + 15 „ Peptonlösung	2,85	+ 176	
		3	8	7	32	38	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	2,20	+ 96	
4	5. V.	1	8	15	36	38	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	1,38	0	Meerschweinchen
		2	13	15	36	38	b) 85 „ „ + 15 „ Peptonlösung	2,53	+ 83	
		3	9	15	36	38	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	1,18	— 16	
5	3. VI.	1	8	15	36	37	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	1,18	0	Meerschweinchen
		2	13	15	37	37	b) 85 „ „ + 15 „ Peptonlösung	1,99	+ 68	
		3	7	15	37	37	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	1,43	+ 21	
6	5. VI.	1	9	15	31	38	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	1,84	0	Meerschweinchen
		2	12	15	31	38	b) 85 „ „ + 15 „ Peptonlösung	2,48	+ 34	
		3	10	15	32	38	a) 85 „ „ + 15 „ NaCl	0,01	— 183	

*) Die Versuche verlaufen zeitlich immer so, daß zuerst Versuch 1, dann 2 und endlich 3 ausgeführt wurde.

**) Die Blutlösung: 100 ccm 1 proz. Na Citrat Blut + 100 ccm 0,85 proz. NaCl + 2 g buttersaures Na.

Die Erfahrungen, die ich in den bisherigen Versuchen gemacht habe, daß häufig in der Nachperiode noch eine recht beträchtliche Steigerung der Acetonbildung zu beobachten war, veranlaßten mich, meine bisherigen Versuche methodisch etwas abzuändern, und zwar in der Weise, daß ich die einzelnen Lösungen zweimal die Leber durchströmen ließ. Das ist so zu verstehen, daß ich erst die Normallösung durch die Leber perfundierte, dann dieselbe Lösung, von der eine Portion vorher zur Analyse zurückgestellt wurde, durch die Leber durchströmte, um dann in genau der gleichen Weise zweimal Lösungen unter Zusatz von Lymphagogum durch die Leber passieren zu lassen. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe finden sich in Tabelle IVa und IVb.

Es zeigt sich in dieser Reihe, daß ausnahmslos die größten Steigerungen sich in der ersten Periode finden, in welcher die Flüssigkeit mit Zusatz von Lymphagogum, Krebsmuskelextrakt und Blutegelextrakt durch die Leber hindurchging. Die prozentischen Vermehrungen betrugen 234, 92, 174, 393, 161 und 257 Proz.

Es zeigt sich also auch in dieser Reihe, daß bei der erstmaligen Durchströmung mit Lösung, welche Lymphagoga enthält, ausnahmslos eine sehr große Steigerung der Acetonbildung stattfindet. Anders verlaufen die Dinge, wenn man dieselbe Lösung, die sich schon mit Aceton angereichert hat, nochmals durch die Leber hindurchgehen läßt. Da ergibt sich in zwei Fällen nochmals eine Steigerung der Acetonbildung gegenüber der Acetonbildung ohne Zusatz von Lymphagogum. Hingegen fünfmal eine direkte und nicht unerhebliche Verminderung der Acetonbildung, ja wie aus meinen einzelnen Protokollen hervorgeht, kommt sogar eine absolute Abnahme der Acetonmenge vor. Teilweise dürften die Verminderungen auf der Schädigung der Leber durch die Lymphagoga oder Lebergifte beruhen. Vielleicht setzt von einer gewissen Zunahme der Acetonmenge in der Durchströmungsflüssigkeit eine Weiterverarbeitung des Acetons ein. Dies läßt sich durch die vorliegende Versuchsreihe nicht erledigen.

In meinen in dieser Arbeit mitgeteilten Versuchen ist der Nachweis geliefert worden, daß Lymphagoga, zugesetzt einer Blutlösung, welche die überlebende Leber durchströmt, die Acetonbildung in der Leber ganz außerordentlich fördern. Hiermit ist gezeigt worden, daß im Sinne der *Asher*schen Theorie die Lymphagoga die spezifische Tätigkeit der Leber anregen und steigern.

Einer kurzen Besprechung bedürfen noch die Erscheinungen bei der doppelten Durchströmung, weil sie eine gewisse Eigenartigkeit aufweisen. Es zeigte sich, daß bei der zweimaligen Durchströmung der Normallösung, die sich schon etwas mit Aceton angereichert hatte, die Acetonbildung in der Leber größer war als vorher, während bei der zweimaligen Durchströmung mit derjenigen Lösung, welche Lym-

Tabelle IVa. Zusammenfassung der zweimaligen Durchströmung. Krebsmuskelextrakt als Lymphagogum.

Nr. des Versuchs	Datum	Periode	Dauer der Durchströmung in Min.	Menge der Durchströmung in ccm	Druck bei d. Durchströmung in mg Hg	Temperatur °C	Durchströmungsflüssigkeit	Acetonbildung pro 100 ccm Durchströmungsflüssigkeit	± Proz. Zunahme oder Abnahme der Acetonbildung mit Lymphagoga gegenüber ohne Lymphagoga	± Proz. Zunahme od Abnahme d. Acetonbildung mit d. Blutlösung mit Lymphagoga, die schon einmal die Leber passierte, gegenüber der mit der Blutlösung ohne Lymphagoga, die auch einmal die Leber passierte	Versuchstier
1	23. III.	1	20	35	30	36	a) 85 ccm Blutlösung + 15 ccm NaCl	0,46			Weiße Ratte
		2	11	15	30	36	b) a'-Lösung, die schon einmal die Leber passierte	1,23			
		3	18	30	31	36	c) 85 ccm Blutlösung + 15 ccm Krebsmuskelextrakt	1,54	+ 234	— 71	
		4	8	15	31	36	d) C-Lösung, die schon einmal die Leber passierte	0,35			
2	27. III.	1	18	30	31	37	a) 85 ccm Blutlösung + 15 ccm NaCl	0,82			
		2	11	16	31	37	b) a'-Lösung, die schon einmal die Leber passierte	0,46			
		3	20	30	29	37	c) 85 ccm Blutlösung + 15 ccm Krebsmuskelextrakt	1,58	+ 92	+ 113	
		4	12	14	30	37	d) C-Lösung, die schon einmal die Leber passierte	0,98			
3	6. IV.	1	10	26	32	36	a) 85 ccm Blutlösung + 15 ccm NaCl	0,67			
		2	12	19	31	36	b) a'-Lösung, die schon einmal die Leber passierte	0,46			
		3	12	24	31	36	c) 85 ccm Blutlösung + 15 ccm Krebsmuskelextrakt	1,84	+ 174	— 321	
		4	10	12	32	36	d) C-Lösung, die schon einmal die Leber passierte	1,02			

Tabelle IVb. Blutegelextrakt als Lymphagogum.

Nr. des Versuchs	Datum	Periode	Dauer der Durchströmung in Min.	Menge der Durchströmung in ccm	Druck bei d. Durchströmung in mg Hg	Temperatur °C	Durchströmungsflüssigkeit	Acetonbildung pro 100 ccm Durchströmungsflüssigkeit	± Proz. Zunahme oder Abnahme der Acetonbildung mit Lymphagoga gegenüber ohne Lymphagoga	± Proz. Zunahme od Abnahme d. Acetonbildung mit d. Blutlösung mit Lymphagoga, die schon einmal die Leber passierte, gegenüber der mit der Blutlösung ohne Lymphagoga, die auch einmal die Leber passierte	Versuchstier
1	6. III.	1	22	34	33	36	a) 85 ccm Blutlösung + 15 ccm NaCl	0,30			Meerschweinchen
		2	6	10	33	36	b) a-Lösung, die schon einmal die Leber passierte	1,35	+ 393	— 72	
		3	16	30	34	36	c) 85 ccm Blutlösung + 15 ccm Blutegelextrakt	1,48			
		4	7	15	34	36	d) C-Lösung, die schon einmal die Leber passierte	0,37			
2	12. III.	1	18	32	32	36	a) 85 ccm Blutlösung + 15 ccm NaCl	0,6			
		2	9	15	32	36	b) a-Lösung, die schon einmal die Leber passierte	0,47	+ 161	+ 53	
		3	21	36	33	36	c) 85 ccm Blutlösung + 15 ccm Blutegelextrakt	1,57			
		4	10	17	33	36	d) C-Lösung, die schon einmal die Leber passierte	0,72			
3	17. III.	1	26	38	34	36	a) 85 ccm Blutlösung + 15 ccm NaCl	0,69			
		2	12	16	33	36	b) a-Lösung, die schon einmal die Leber passierte	0,72			
		3	19	30	33	36	c) 85 ccm Blutlösung + 15 ccm Blutegelextrakt	2,11	+ 257	— 79	
		4	9	14	33	36	d) C-Lösung, die schon einmal die Leber passierte	0,15			

phagogum enthielt, meist die Acetonbildung geringer war. Die Erklärung dieser auffallenden Erscheinung ist vorerst nicht leicht zu geben. Es scheint mir, daß die Abnahme bei der zweitmaligen Durchströmung mit lymphagogumhaltiger Lösung auf einer gewissen Schädigung der Leber beruht. Die Ergebnisse meiner ersten und entscheidenden Versuchsreihe werden durch die hier besprochene Erscheinung nicht geändert. Die Versuchsanordnung, die ich dort gewählt habe, die Einschaltung der Periode mit Durchströmung von Flüssigkeit, welche Lymphagogum enthielt, zwischen zwei Perioden mit Normalflüssigkeit unter weiterer Einschaltung von Ausspülung, sichert die Richtigkeit des Ergebnisses, daß Zusatz von Lymphagogum zur Durchströmungsflüssigkeit die an der Acetonbildung bemessene Tätigkeit der Leber erhöht.

Zusammengefaßt, sind die Ergebnisse meiner Arbeit die nachfolgenden:

1. Es wurden überlebende Lebern von Ratten und Meerschweinchen mit Blutlösung durchströmt, welche Buttersäure enthielten. Zusatz von Lymphagogumsubstanzen bewirkt eine erhebliche Steigerung der Acetonbildung.

2. Hiermit ist ein neuer, sicherer Beweis dafür geliefert, daß die spezifischen Lymphagoga oder Lebergifte die Tätigkeit der Leber anregen. Zugleich ist mit diesem Nachweis eine neue Stütze für die Theorie von *Asher* über die Lymphbildung gewonnen worden, nach welcher jede physiologische Lymphbildung mit vermehrter Organtätigkeit einhergeht.

Untersuchungen über die Eigenschaften und die Entstehung der Lymphe.

XII. Mitteilung:

Physikalisch-chemische Untersuchungen über die Beeinflussung des Blutes durch Zusatz von spezifischen Lymphagogis bei Durchströmung durch die Leber.

Von

Yukujiro Abe.

[Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern (Hallerianum).]

(Eingegangen am 4. September 1925.)

In meinen voraufgehenden Mitteilungen wurde über Untersuchungen berichtet, welche ich, ausgehend von der *Asher*schen Lehre, über die Lymphbildung und über die Wirkungsweise der spezifischen Lymphagoga oder sogenannten Lebergifte angestellt habe. Diese voraufgehenden Untersuchungen haben in Übereinstimmung mit den älteren Arbeiten des Berner physiologischen Instituts zu dem Ergebnis geführt, daß die Lymphbildung durch die spezifische Lymphagoga primär durch die Anregung der Lebertätigkeit veranlaßt sei, und daß die mechanischen Momente des Kreislaufs, insofern sie überhaupt eine Rolle spielen, dies nur in sekundärer Weise tun.

Es gibt jedoch noch andere Änderungen, welche durch die Lymphagoga herbeigeführt werden könnten und welche einer Untersuchung bedürfen, Änderungen physikalisch-chemischer Natur. Ich habe auf Anregung von Prof. *Asher* diese Änderungen einer Untersuchung unterzogen. Es ließe sich denken, daß physikalisch-chemische Eigenschaften des Blutes entweder durch den bloßen Zusatz von lymphagogen Substanzen oder infolge der Durchströmung der Leber mit solchen lymphagogen Substanzen eintreten. In erster Linie ist an den Quellungsdruck und an die Viskosität zu denken. Änderungen des Quellungsdrucks oder der Viskosität sind vornehmlich ein Ausdruck veränderter physikalisch-chemischer Beschaffenheit der Blutkolloide. Solche Veränderungen der Blutkolloide können vom theoretischen Standpunkte aus den Stoffaustausch zwischen Blut und Geweben, insbesondere den Wasseraustausch, merklich beeinflussen. Es hat sich allerdings gezeigt, daß die Bedeutung dieser Faktoren einigermaßen überschätzt worden ist. Es sei an das Beispiel der Diuretica erinnert. *Ellinger* hat die sehr interessante Beobachtung gemacht, daß die

meisten Diuretica den Quellungsdruck des Bluteiweißes erniedrigen. Ganz folgerichtig schloß er daraus, daß die Abtrennung von Wasser aus dem Blute infolge hiervon erleichtert sein müsse, und daß die Wirkungen der Diuretica hierauf beruhen können. In neuer Zeit hat jedoch *Curtis*[1]) im Berner physiologischen Institut mit Sicherheit dargetan, daß die Wirkungsweise der Diuretica mit Änderungen des Quellungsdrucks der Bluteiweißkörper nichts zu tun habe.

Untersuchungen über den Einfluß des Quellungsdruckes.

Meine Methodik der Ermittlung der Änderungen des Quellungsdruckes unter den Bedingungen meiner Versuche war die von *Hofmeister* und *Spiro*, welche sie in ihren bekannten bahnbrechenden Arbeiten angewendet haben. Es handelt sich im Prinzip darum, die Gewichtszunahme von Gelatineplättchen in Blutlösung nach verschiedener Vorbehandlungsweise zu ermitteln. Größere Gewichtszunahmen bedeuten größeren Quellungsdruck, kleinere Gewichtszunahmen bedeuten kleinen Quellungsdruck.

Zur Herstellung der Gelatineplättchen habe ich 20 g Gelatine in 200 ccm destillierten Wassers gebracht. Nach 30 Minuten langem Kochen, wie bei der Nährbodendarstellung, und ordentlichem Schütteln gießt man sie in eine Petrischale aus. Die Schichthöhe soll dabei ungefähr 0,4 bis 0,5 ccm sein. Man läßt die Gelatine ungefähr 1 Stunde lang abkühlen. Diese Zeit ist genügend, um eine ziemlich feste Schicht zu erhalten, damit man mit einem Metallrohr (von 1,15 cm Durchmesser) genügend feste Gelatinescheiben ausschneiden kann. Jede Scheibe ist von 0,5 cm Dicke und von 0,15 cm Durchmesser. Das Gewicht jeder Scheibe beträgt ungefähr 500 mg.

Zur Aufnahme der Prüfungsflüssigkeit im Gelatineplättchen wurden breithalsige braune Fläschchen von ungefähr 7 cm Höhe und von 2 cm Durchmesser gewählt. Der gut dazu passende und aus Glas hergestellte Stopfen soll vor dem Versuch mit Salbe *bestrichen* werden; der Verschluß soll absolut luftdicht sein, um die Verdunstung zu vermeiden, die Gefäße sollen vor dem Versuch absolut trocken sein.

Als Durchströmungsflüssigkeit diente ganz frisches Blut mit dem Gehalt von 1 Proz. Na-Citrat, welches aus dem Schlachthof geholt wurde. Das Blut stellte die *Stammlösung* für die Vorbereitung der 1. Blutlösung ohne Lymphagoga und 2. Blutlösung mit Lymphagoga dar.

1. *Ohne Lymphagoga:* 85 ccm Blutstammlösung + 15 ccm 0,85 proz. NaCl.

2. *Mit Lymphagoga:* 85 ccm Blutstammlösung + 15 ccm Lymphagoga.

Als Lymphagoga wurde benutzt:

a) Krebsmuskelextrakt in 0,85 proz. NaCl
b) Blutegelextrakt „ 0,85 „ NaCl
c) Peptonlösung „ 0,85 „ NaCl

[1]) *Curtis, G. M.*, diese Zeitschr. **163**, 109, 1925.

a) *Krebsmuskelextrakt in 0,85proz. NaCl.* Die trockenen Krebsmuskeln (Darstellung siehe *Heidenhain*) wurden in 0,85proz. NaCl 30 Minuten lang gekocht (1 g auf 10 ccm NaCl), dann filtriert.

b) Blutegelextrakt in 0,85proz. NaCl (0,6 g auf 10 ccm NaCl). Genaue Darstellung siehe *Heidenhain.*

c) Peptonlösung in 0,85proz. NaCl = 9proz. in 0,85proz. NaCl.

Ausführung des Versuchs.

Als Durchströmungsorgan diente die Leber (genaue Präparation: siehe meine voraufgehende Arbeit über Acetonbildung).

Durchströmungsdruck, Zeit der Durchströmung, Durchströmungsmenge, Temperaturen sind genau in den Protokollen der einzelnen Versuche angegeben. Zuerst wurde die Blutlösung ohne Lymphagoga in die Leber perfundiert. Ein Teil dieser Lösung wurde im Wasserbade von gleicher Temperatur, bei welcher die Durchströmung stattgefunden hat, aufbewahrt. Auch die Blutlösung, die fortwährend durch die Leber aus der Vena hepatica tropfte, habe ich im gleichen Wasserbade aufbewahrt. Dann genau nach 1 Stunde wurden diese Lösungen zur Bestimmung des Quellungsdruckes benutzt. In gleicher Weise wurde die Durchströmung mit der Blutlösung, welche Lymphagoga enthält, ausgeführt.

Die Durchströmung mit Lymphagoga folgte ein paar Minuten nach der Durchströmung ohne Lymphagoga. Die vorherige Blutlösung wurde aus der Druckflasche und den Verbindungsröhren entfernt, und auch die ersten 50 Tropfen, die aus der Leber kamen, wurden nicht verwendet.

Bestimmung des Quellungsdruckes.

Es wurden bestimmt:

1. Der Quellungsdruck der Blutlösung ohne Lymphagoga vor der Durchströmung.
2. Der Quellungsdruck der Blutlösung ohne Lymphagoga nach der Durchströmung.
3. Der Quellungsdruck der Blutlösung mit Lymphagoga vor der Durchströmung.
4. Der Quellungsdruck der Blutlösung mit Lymphagoga nach der Durchströmung.

Man bringt 3 ccm Blutlösung in das oben beschriebene Gefäß. Dann wiegt man genau mit der analytischen Wage die Gelatinescheibe und bringt diese auch in das Gefäß. Dabei muß diese Scheibe ganz in der Flüssigkeit sein und die Gefäßwände nicht berühren. Dann schließt man das Gefäß mit dem gut mit Salbe bestrichenen Stopfen luftdicht zu. Das Gefäß wird im Eisschrank aufbewahrt. Die zweite Wägung desselben Gelatineplättchens erfolgte nach 3, 15, 18 und 24 Stunden. Der Stopfen wurde dann entfernt, die Flüssigkeit ausgegossen und das Gelatineplättchen auf Fließpapier gebracht und getrocknet. Dann wurde das Gelatineplättchen gewogen. Die Differenz der Gewichte stellt das Maß für den Quellungsdruck der Gelatineplättchen bzw. für die Menge der Flüssigkeit dar, die vom Gelatineplättchen aufgenommen wird.

Die Ergebnisse meiner Versuche teile ich in drei Übersichtstabellen mit, welche die genaueren Angaben über die Versuche mit Anwendung von Krebsmuskelextrakt, von Blutegelextrakt und von Peptonlösung enthalten, sowie drei Übersichtstabellen, welche ver-

Tabelle I. Mit Krebsmuskelextrakt.

Nr. des Versuchs	Datum	Durchströmungsflüssigkeit	Durchströmungsmenge in ccm	Durchströmungszeit in Min.	Durchströmungsdruck in mm Hg	Temperatur in °C	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 3 Stdn. Vor der Durchströmung	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 3 Stdn. Nach der Durchströmung	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 15 Stdn. Vor der Durchströmung	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 15 Stdn. Nach der Durchströmung	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 18 Stdn. Vor der Durchströmung	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 18 Stdn. Nach der Durchströmung	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 24 Stdn. Vor der Durchströmung	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 24 Stdn. Nach der Durchströmung
1	20. III.	a) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Kalbsblut + 10 ccm 0,85 proz. NaCl	31	15	41	37	23,5	22,3	—	—	—	—	61,7	47,0
		b) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Kalbsblut + 10 ccm Krebsmuskelextrakt	30	15	40	37	27,7	28,4	—	—	—	—	49,3	61,2
2	23. III.	a) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Schweinsblut + 10 ccm 0,85 proz. NaCl	32	15	43	37	1,9	4,3	—	—	18,0	11,8	24,8	24,4
		b) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Schweinsblut + 10 ccm Krebsmuskelextrakt	31	16	44	37	13,1	14,4	—	—	17,7	31,9	48,0	44,4
3	6. IV.	a) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Kuhblut + 10 ccm 0,85 proz. NaCl	33	16	41	37	—	—	67,0	62,1	80,4	71,6	(66,8	89,8)
		b) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Kuhblut + 10 ccm Krebsmuskelextrakt	34	16	42	37	—	—	50,3	55,2	66,7	61,0	(80,0	72,7)
4	17. IV.	a) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Kalbsblut + 10 ccm 0,85 proz. NaCl	35	15	42	37	—	—	—	—	59,4	58,1	51,0	55,8
		b) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Kalbsblut + 10 ccm Krebsmuskelextrakt	32	14	44	37	—	—	—	—	40,3	42,5	49,3	47,4
5	20. IV.	a) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Schweinsblut + 10 ccm 0,85 proz. NaCl	33	14	45	37	16,5	15,4	—	—	26,0	25,0	25,5	27,0
		b) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Schweinsblut + 10 ccm Krebsmuskelextrakt	31	13	43	37	13,8	13,9	—	—	20,7	26,4	18,1	24,4
6	1. V.	a) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Kalbsblut + 10 ccm 0,85 proz. NaCl	35	14	42	37	—	—	—	—	62,0	61,9	60,0	58,7
		b) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Kalbsblut + 10 ccm Krebsmuskelextrakt	33	14	42	37	—	—	—	—	57,7	60,3	51,0	60,8

Tabelle 11. Mit Blutegelextrakt.

Nr. des Versuchs	Datum	Durchströmungsflüssigkeit	Durchströmungsmenge in ccm	Durchströmungszeit in Min.	Durchströmungsdruck in mm Hg	Temperatur in °C	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 3 Stdn. Vor der Durchströmung	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 3 Stdn. Nach der Durchströmung	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 15 Stdn Vor der Durchströmung	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 15 Stdn. Nach der Durchströmung	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 18 Stdn Vor der Durchströmung	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 18 Stdn. Nach der Durchströmung	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 24 Stdn. * Vor der Durchströmung	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 24 Stdn. Nach der Durchströmung
1	13. IV.	a) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Schweinsblut + 10 ccm 0,85 proz. NaCl	35	15	42	37	18,6	17,4	—	—	27,8	29,7	—	—
		b) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Schweinsblut + 10 ccm Blutegelextrakt	34	15	45	37	13,1	14,2	—	—	33,4	34,6	—	—
2	24. IV.	a) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Ochsenblut + 10 ccm 0,85 proz. NaCl	30	15	44	37	—	—	41,1	38,6	37,4	48,1	47,8	45,2
		b) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Ochsenblut + 10 ccm Blutegelextrakt	32	15	43	37	—	—	37,0	41,5	37,4	44,3	42,3	49,0
3	4. V.	a) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Ochsenblut + 10 ccm 0,85 proz. NaCl	35	15	36	37,5	—	—	52,5	40,2	59,1	45,6	(44,0	64,9)
		b) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Ochsenblut + 10 ccm Blutegelextrakt	33	14	44	37,5	—	—	54,4	47,5	60,1	50,4	64,3)	67,9)
4	7. V.	a) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Kalbsblut + 10 ccm 0,85 proz. NaCl	37	15	48	38	—	—	36,5	35,8	34,2	38,3	38,4	36,7
		b) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Kalbsblut + 10 ccm Blutegelextrakt	35	14	47	38	—	—	48,5	26,0	32,1	40,4	49,3	56,0
5	22. V.	a) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Kuhblut + 10 ccm 0,85 proz. NaCl	34	14	39	38	22,1	23,0	—	—	68,3	60,4	77,8	75,9
		b) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Kalbsblut + 10 ccm Blutegelextrakt	31	14	43	38	16,4	17,7	—	—	45,1	47,3	65,6	68,9

Tabelle III. Mit Peptonlösung.

Nr. des Versuchs	Datum	Durchströmungsflüssigkeit	Durchströmungsmenge in ccm	Durchströmungszeit in Min.	Durchströmungsdruck in mm Hg	Temperatur in °C	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 3 Stdn. Vor der Durchströmung	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 3 Stdn. Nach der Durchströmung	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 15 Stdn. Vor der Durchströmung	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 15 Stdn. Nach der Durchströmung	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 18 Stdn. Vor der Durchströmung	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 18 Stdn. Nach der Durchströmung	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 24 Stdn. Vor der Durchströmung	Gewichtszunahme in Proz. der Gelatineplättchen nach 24 Stdn. Nach der Durchströmung
1	25. III.	a) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Kalbsblut + 10 ccm 0,85 proz. NaCl	33	14	43	37	48,4	42,5	—	—	—	—	76,9	72,8
		b) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Kalbsblut + 10 ccm Peptonlösung	32	14	35	37	41,0	41,7	—	—	—	—	58,7	91,1
2	25. V.	a) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Schweinsblut + 10 ccm 0,85 proz. NaCl	35	15	47	37	—	—	35,7	27,6	29,4	28,8	37,7	32,5
		b) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Schweinsblut + 10 ccm Peptonlösung	34	15	45	37	—	—	24,7	26,9	37,5	33,7	33,7	47,2
3	30. V.	a) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Schweinsblut + 10 ccm 0,85 proz. NaCl	37	14	45	37	—	—	28,8	29,4	36,0	31,1	—	—
		b) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Schweinsblut + 10 ccm Peptonlösung	35	13	46	37	—	—	26,4	26,7	42,0	34,3	—	—
4	3. VI.	a) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Schweinsblut + 10 ccm 0,85 proz. NaCl	33	15	43	37	—	—	26,9	24,3	21,7	21,5	19,8	25,7
		b) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Schweinsblut + 10 ccm Peptonlösung	30	15	45	37	—	—	17,4	26,1	23,2	36,5	23,7	41,6
5	9. VI.	a) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Schweinsblut + 10 ccm 0,85 proz. NaCl	30	14	42	37	—	—	15,7	23,6	23,6	17,8	—	—
		b) 90 ccm 1 proz. Na-Citrat-Schweinsblut + 10 ccm Peptonlösung	34	14	44	37	—	—	18,6	30,8	22,6	31,2	—	—

Tabelle Ia. Zusammenfassung des Quellungsdruckes.
Tabelle I + Kontrolle Tabelle I.
Als Lymphagoga Krebsmuskelextrakt.

Nr. des Versuchs	Zeit des Verbleibens des Gelatineplättchens in der Lösung in Stdn.	Prozentische Zunahme des Gelatineplättchengewichts vor der Durchströmung m. Lymphagoga	Prozentische Zunahme des Gelatineplättchengewichts nach d. Durchströmung m. Lymphagoga	+ Zunahme oder Abnahme	Prozentische Zunahme des Gelatineplättchengewichts vor der Durchströmung ohne Lymphagoga	Prozentische Zunahme des Gelatineplättchengewichts nach d. Durchströmung ohne Lymphagoga	+ Zunahme oder Abnahme
1	3	27,7	28,4	+ 0,7	23,5	22,3	— 1,2
	15	—	—	—	—	—	—
	18	—	—	—	—	—	—
	24	49,3	61,2	+ 11,9	61,7	47,0	— 14,7
2	3	13,1	14,4	+ 1,3	1,9	4,3	+ 2,4
	15	—	—	—	—	—	—
	18	17,7	31,9	+ 14,2	18,0	11,8	— 6,2
	24	48,0	44,4	— 3,6	24,8	24,4	— 0,4
3	3	—	—	—	—	—	—
	15	50,3	55,2	+ 4,9	67,0	62,1	— 4,9
	18	66,7	61,0	— 5,7	80,4	71,6	— 8,8
	(24	80,0	72,7	— 7,3	66,8	89,8	+ 23,0)?
4	3	—	—	—	—	—	—
	15	—	—	—	—	—	—
	18	40,3	42,5	+ 2,2	59,4	58,1	— 1,3
	24	49,3	47,4	— 1,9	51,0	55,8	+ 4,8
5	3	13,8	13,9	+ 0,1	16,5	15,4	— 1,1
	15	—	—	—	—	—	—
	18	20,7	26,4	+ 5,7	26,0	25,2	— 0,8
	24	18,1	24,4	+ 6,3	25,5	27,0	+ 1,5
6	3	—	—	—	—	—	—
	15	—	—	—	—	—	—
	18	57,7	60,3	+ 2,6	62,0	61,9	— 0,1
	24	51,0	60,8	+ 9,8	60,0	58,7	— 1,3

gleichend die Daten über die Änderungen des Quellungsdruckes bei Berührung mit Blut ohne und Blut mit Lymphagogum enthalten. Jede Versuchsreihe ist doppelt angestellt, indem die Änderungen des Quellungsdruckes im Blute vor und im Blute nach der Durchströmung ermittelt wurden.

Bei genauerer Durchsicht der Ergebnisse erscheinen dieselben nicht ganz einheitlicher Natur, indem gelegentlich Kontrollproben ähnliche Veränderungen des Quellungsdruckes zeigen wie die Proben bei Zusatz von Lymphagoga. Sehe ich aber von den einzelnen Unregelmäßigkeiten ab, so zeigt sich doch in der großen Mehrzahl der Fälle, daß dasjenige Blut, welches mit Lymphagogum versetzt und durch die Leber hindurchgegangen ist, eine kleine Vermehrung des

Tabelle IIa. **Zusammenfassung des Quellungsdruckes.**
Tabelle II + Kontrolle Tabelle II.
Als Lymphagoga Blutegelextrakt.

Nr. des Versuchs	Zeit des Verbleibens des Gelatineplättchens in der Lösung in Stdn.	Prozentische Zunahme des Gelatineplättchengewichts vor der Durchströmung m. Lymphagoga	Prozentische Zunahme des Gelatineplättchengewichts nach d. Durchströmung m. Lymphagoga	± Zunahme oder Abnahme	Prozentische Zunahme des Gelatineplättchengewichts vor der Durchströmung ohne Lymphagoga	Prozentische Zunahme des Gelatineplättchengewichts nach d. Durchströmung ohne Lymphagoga	± Zunahme oder Abnahme
1	3	13,1	14,2	+ 1,1	18,6	17,4	— 1,2
	15	—	—	—	—	—	—
	18	33,4	34,6	+ 1,2	27,8	29,7	+ 1,9
	24	—	—	—	—	—	—
2	3	—	—	—	—	—	—
	15	37,0	41,5	+ 4,5	41,1	38,6	— 2,5
	18	37,4	44,3	+ 6,9	37,1	48,1	+ 10,7
	24	42,3	49,0	+ 6,7	47,8	45,2	— 2,6
3	3	—	—	—	—	—	—
	15	54,4	47,5	— 6,9	52,5	40,2	— 12,3
	18	60,1	50,4	— 9,7	59,1	45,6	— 3,5
	(24	64,3	67,9	+ 3,6	44,0	64,9	+ 20,9)?
4	3	—	—	—	—	—	—
	15	48,5	26,6	— 21,9	36,5	35,8	— 0,7
	18	32,1	40,4	+ 8,3	34,2	38,3	+ 4,1
	24	49,3	56,0	+ 6,7	38,4	36,7	— 1,7
5	3	16,4	17,7	+ 1,3	22,1	23,0	+ 0,9
	15	—	—	—	—	—	—
	18	45,1	47,3	+ 2,2	77,9	60,4	— 17,5
	24	65,6	68,9	+ 3,3	77,8	75,9	— 1,9

Quellungsdruckes erfahren hat. Denn es überwiegen im Vergleich zu den Kontrollen die, wenn auch nicht sehr großen Gewichtszunahmen der Gelatineplättchen.

Mag auch das Ergebnis dieser Versuchsreihe kein sehr deutlich ausgesprochenes sein, so genügt es jedenfalls zur Erkenntnis, daß keine Minderung des Quellungsdruckes des Blutes eintritt, wenn es unter Lymphagogumzusatz die Leber durchströmt hat. Es liegt demnach kein Anhaltspunkt dafür vor, daß Änderungen des Quellungsdruckes irgendwie einen erheblichen Flüssigkeitsaustritt aus den Leberkapillaren in die Lymphräume bewirken können.

Untersuchungen über den Einfluß der Lymphagoga, über die Viskosität des Blutes lebender Tiere bei Zusatz von Lymphagoga.

Den etwaigen Einfluß der Lymphagoga auf die Viskosität des Blutes habe ich sowohl am überlebenden Organ wie auch am lebenden Organismus studiert. Zu dem nicht ganz leichten Studium am lebenden

Tabelle III a. Zusammenfassung des Quellungsdruckes.
Tabelle III + Kontrolle Tabelle III.
Als Lymphagoga Peptonlösung.

Nr. des Versuchs	Zeit des Verbleibens des Gelatineplättchens in der Lösung in Stdn.	Prozentische Zunahme des Gelatineplättchengewichts vor der Durchströmung m. Lymphagoga	Prozentische Zunahme des Gelatineplättchengewichts nach d. Durchströmung m. Lymphagoga	± Zunahme oder Abnahme	Prozentische Zunahme des Gelatineplättchengewichts vor der Durchströmung ohne Lymphagoga	Prozentische Zunahme des Gelatineplättchengewichts nach d. Durchströmung ohne Lymphagoga	± Zunahme oder Abnahme
1	3	41,0	41,7	+ 0,7	48,4	42,5	— 5,9
	15	—	—	—	—	—	—
	18	—	—	—	—	—	—
	24	58,7	91,1	+ 32,4	76,9	72,8	— 4,1
2	3	—	—	—	—	—	—
	15	24,7	26,9	+ 2,2	35,7	27,6	— 8,1
	18	37,5	33,7	— 3,8	29,4	28,8	— 0,6
	24	33,7	47,2	+ 13,5	37,7	32,5	— 5,2
3	3	—	—	—	—	—	—
	15	26,4	26,7	+ 0,3	28,8	29,4	+ 0,6
	18	42,0	34,3	— 7,7	36,0	31,1	— 4,9
	24	—	—	—	—	—	—
4	3	—	—	—	—	—	—
	15	17,4	26,1	+ 8,7	26,9	24,3	— 2,6
	18	23,2	36,5	+ 13,3	21,7	21,5	— 0,2
	24	23,7	41,6	+ 17,9	19,8	25,7	+ 5,9
5	3	—	—	—	—	—	—
	15	18,6	30,8	+ 12,2	15,7	23,6	+ 7,9
	18	22,6	31,2	+ 8,6	23,6	17,8	— 5,8
	24	—	—	—	—	—	—

Organismus, für welches ich mir die erforderlichen Methoden schaffen mußte, bin ich geschritten, weil die Viskositätsuntersuchungen am überlebenden Organ keine eindeutigen und daher mit Sicherheit verwertbaren Resultate lieferten.

Prüfung am überlebenden Organ.

Die Präparation der Leber, Durchströmungslösung, Durchströmungsdruck, alles wurde ganz gleich ausgeführt wie bei der Bestimmung des Quellungsdruckes und soll daher auf den voraufgehenden Abschnitt verwiesen werden. Die Viskositätsbestimmung habe ich mit dem *Hess*schen Viskosimeter ausgeführt. Zuerst wurde dei Viskositätswert der Blutlösung ohne Lymphagoga (85 ccm 1 proz. Na-Citratblut + 15 ccm 0,85 proz. NaCl) bestimmt, dann wurde diese Lösung zur Durchströmung durch die Leber benutzt und sofort nach der Durchströmung die Viskosität dieser Blutlösung wiederum festgestellt.

In gleicher Weise habe ich Viskositätsbestimmungen der Blutlösungen mit Lymphagoga (85 ccm 1 proz. Na-Citratblut + 15 ccm Lymphagoga in 0,85 proz. NaCl) vor und nach der Durchströmung ausgeführt.

Prüfung der Viskosität am lebenden Tier.

Als Tiere wurden hauptsächlich Ratten benutzt, fünf bis sechs Versuche habe ich mit Kaninchen ausgeführt. In diesen letzteren Versuchen habe ich eine andere Methodik gewählt.

a) *Versuche mit den Ratten.* 40 Minuten vor dem Beginn des Versuchs wurden dem Versuchstiere 0,3 ccm 1 proz. Morphiumhydrochloricumlösung subkutan injiziert. Sobald die Narkose eintrat (30 Minuten), wurde das Tier in gewöhnlicher Weise auf der Holzplatte aufgebunden. Laparatomie durch einen Schnitt in der Linie alba vom Processus xyphoideus etwa bis zum Nabel, dann seitlicher Schnitt etwa 1,5 cm lang dem letzten rechten Rippenbogen entlang. Wenn man die Eingeweide nach links zur Seite schiebt, so kommt die Vena porta leicht zum Vorschein. Um zur Vena hepatica zu gelangen, was viel schwieriger ist, rate ich folgendes Verfahren: Man hebt die Platte etwas, so daß sie eine Zwischenstellung zwischen horizontaler und vertikaler Lage einnimmt, der Kopf oben, die Füße unten. Dann gibt man der Platte eine leichte Drehung von rechts nach links (man muß sich vorstellen, daß man hinter der Platte steht), so daß die Leber mehr nach vorn gerichtet ist und die Milz mehr nach hinten sich befindet. Durch diese Lage sinkt die Leber wegen der Schwere etwas nach unten. Jetzt drückt man mit einer Pinzette zwischen Zwerchfell und Leber entlang die letztere sanft nach unten. Dann kommt die Vena hepatica zwischen Leber und Zwerchfell etwa 0,7 cm lang zum Vorschein. Dabei möchte ich vor zu starkem Druck auf die Leber und besonders vor der Ausübung eines kräftigen Zuges auf die Leber warnen, denn dadurch werden, wenn auch die Vena cava inferior leichter zu Gesicht kommt, die Zwerchfellexkursionen gehemmt, die Atmung leidet, die Venosität des Blutes nimmt zu, und dies schon für sich allein bewirkt eine Viskositätsänderung des Blutes.

Nachdem die beiden Venen freigelegt wurden, habe ich aus der Vena porta mittels einer Pravatspritze mit sehr dünner Nadel 0,1 ccm Blut genommen und sofort dieses Blut für die Viskositätsbestimmung benutzt. Inzwischen wurde der Bauch vorübergehend geschlossen, indem ich die Hautränder mit der Arterienklemme verschloß. Nach der Viskositätsbestimmung und Reinigung und Trocknen der Kanüle habe ich 0,1 ccm Blut aus der Vena hepatica entnommen und wiederum sofort auf Viskosität untersucht. Die Zeit vom Beginn der ersten und Ende der zweiten Blutentnahme war ungefähr 4 bis 5 Minuten. Jetzt wurden 0,3 ccm von Lymphagoga in die Pfortader injiziert. Man bemerkt sofort, wie die Pfortader schwillt. Diese Schwellung beruht auf Kontraktion der Lebergefäße, was ich in einer voraufgehenden Arbeit über den Einfluß der Lymphagoga auf die Lebergefäße nachgewiesen habe. Die Schwellung ist so groß, daß der Umfang der Vena porta um das Drei- bis Vierfache zunimmt. Nimmt man die Kanüle aus der Vena heraus, so liegt dann die Gefahr einer stärkeren Blutung vor. Ich habe daher immer nach Herausnahme der Kanüle 1 Minute lang die Vene mit dem Finger oder mit getrockneter Watte leicht komprimiert. Nach 4 Minuten wurde das Blut zur Viskositätsbestimmung entnommen. Die Entnahme des Blutes geschah in gleicher Weise wie vor

der Injektion der Lymphagoga. Es wurde auch die gleiche Menge des Blutes entnommen. Nur auf einen Unterschied möchte ich verweisen. Ich habe das Blut zuerst aus der Vena hepatica und dann aus der Vena porta entnommen, also gerade in umgekehrter Reihe, wie vor der Injektion der Lymphagoga. Dies geschah aus dem Grunde, daß, wenn ich das Blut nach 4 Minuten aus der Pfortader entnehme, dann dieses Blut noch Reste von Lymphagoga enthält. Durch sehr starke Kontraktion der Lebergefäße wurde den letzten Portionen der Lymphagoga ein Widerstand gesetzt. Dann möchte ich noch auf folgendes aufmerksam machen. Will man das Blut aus der Vena hepatica früher als nach 4 Minuten nach Lymphagogainjektion entnehmen, so stößt man auf unüberwindliche Schwierigkeit. Infolge der mächtigen Kontraktionen der Lebergefäße ist die Vena hepatica leer. Der Druck in dieser Vene kann sogar negativ sein, und das Tier geht durch Luftembolie zugrunde, wenn man während dieser Zeit die Vene mit der Nadel ansticht. Ich konnte in den ersten zehn Versuchen durch Sektion dies genau feststellen: In allen diesen Versuchen fand ich im rechten Vorhof und Ventrikel Luftembolie.

b) *Versuche mit den Kaninchen.* Hier wurde das Blut für Viskositätsbestimmung aus der Ohrvene entnommen. Auch die Lymphagoga wurden in die Ohrvene injiziert. Um die Veränderungen der Atmung (Tiefe und Frequenz) durch Injektion der Lymphagoga gleichzeitig zu kontrollieren, habe ich das Tier leicht durch Morphiuminjektion (2 ccm 1 proz.) narkotisiert. Bei nicht narkotisiertem Tiere läßt sich die Zahl der Atemzüge von jedem Geräusch im Zimmer beeinflussen. Der Versuch verlief in folgender Weise: Das Tier wurde in den Kaninchenkasten gebracht und der Kopf durch das Loch nach außen herausgezogen. Den Kastendeckel habe ich nicht benutzt, um die Atmung beobachten zu können. Dann wurden aus der Ohrvene des linken Ohres ein paar Tropfen Blut entnommen und die Viskosität dieses Blutes bestimmt, dann ungefähr 10 Minuten nach der ersten Blutentnahme 5 ccm 0,85 proz. NaCl in die Vene des anderen Ohres langsam injiziert und nach 4 Minuten wiederum das Blut aus dem linken Ohr zur Viskositätsbestimmung entnommen. Nach 10 Minuten wurden in das rechte Ohr 5 ccm Lymphagoga injiziert und wiederum nach 4 Minuten das Blut aus dem linken Ohr entnommen und auf Viskosität untersucht. Lymphagoga und NaCl wurden vor der Injektion auf gleiche Temperatur, und zwar auf 37° erwärmt. Während der ganzen Versuchsdauer wurde die Zahl der Atemzüge des Tieres gezählt. Bei drei Tieren habe ich keine Viskositätsbestimmung ausgeführt. Es wurde nur die Zahl der Atemzüge nach Injektion von NaCl und Lymphagoga gezählt.

Meine erste Versuchsreihe wurde, wie schon in der Einleitung erwähnt, an der überlebenden Leber angestellt.

Aus meiner Übersichtstabelle I, welche die Resultate von 15 Versuchen enthält, zeigt sich, daß die Änderungen der Viskosität des durchströmenden Blutes, wenn sie überhaupt vorhanden waren, geringfügig waren, und daß ein Unterschied zwischen Blut mit Zusatz von Lymphagogum und solchem ohne Zusatz von Lymphagogum nicht festzustellen war.

Es war die Unbestimmtheit meiner Versuchsreihe, die mich, wie gesagt, veranlaßte, am lebenden Tiere die Versuche weiterzuführen.

Tabelle Ib. 1. Viskosität am überlebenden Organ. (Rattenleber).

Nr. des Versuchs	Datum	Durchströmungsflüssigkeit	Durchströmungsdruck in mm Hg	Durchströmungsdauer in Min.	Durchströmungsmenge in ccm	Temperatur der Durchströmungsflüssigkeit in °C	Viskosität vor der Durchströmung	Viskosität nach der Durchströmung	± Proz. Zunahme oder Abnahme der Viskosität vor d. Durchströmungsflüssigkeit gegenüber d. Viskosität n. d. Durchströmungsflüssigkeit	Temperatur, b. welcher d. Viskositätsbestimmung ausgeführt wurde in °C	Versuchstier	Körpergewicht in g
1	30. IV.	a) 85 ccm 1 proz. Na-Citratblut + 15 ccm Krebsmuskelextrakt	28	18	14	37	2,7	2,6	+ 3	18	Weiße Ratte	182
		b) 85 „ 1 „ „ + 15 „ Na-Citrat	28	17	15	37	2,7	2,5	+ 8	18		
2	6. V.	a) 85 „ 1 „ „ + 15 „ Krebsmuskelextrakt	32	6	19	36	3,4	3,4	0	20		190
		b) 85 „ 1 „ „ + 15 „ Na-Citrat	30	7	15	36	3,6	3,5	+ 2	20		
3	7. V.	a) 85 „ 1 „ „ + 15 „ Krebsmuskelextrakt	31	5	19	36	3,6	3,5	+ 3	20		183
		b) 85 „ 1 „ „ + 15 „ Na-Citrat	31	8	17	36	3,7	3,6	+ 2	20		
4	10. V.	a) 85 „ 1 „ „ + 15 „ Krebsmuskelextrakt	21	11	18	36	3,1	3,0	+ 3	20		158
		b) 85 „ 1 „ „ + 15 „ Na-Citrat	20	12	15	36	3,94	3,77	+ 4	20		
5	11. V.	a) 85 „ 1 „ „ + 15 „ Krebsmuskelextrakt	22	9	15	36	2,3	1,9	+ 21	20		179
		b) 85 „ 1 „ „ + 15 „ Na-Citrat	23	8	15	36	2,2	1,9	+ 15	20		
6	3. V.	a) 85 „ 1 „ „ + 15 „ Blutegelextrakt	36	14	15	36	4,8	4,7	+ 2	19		165
		b) 85 „ 1 „ „ + 15 „ „	37	13	14	36	4,9	4,8	+ 2	20		
7	12. V.	a) 85 „ 1 „ „ + 15 „ „	35	11	15	37	3,7	3,6	+ 2	20		205
		b) 85 „ 1 „ „ + 15 „ „	34	11	15	37	3,9	3,8	+ 2	20		
8	13. V.	a) 85 „ 1 „ „ + 15 „ „	33	13	15	36	3,1	3,3	— 6	20		160
		b) 85 „ 1 „ „ + 15 „ „	33	11	14	36	3,1	3,1	0	20		
9	16. V.	a) 85 „ 1 „ „ + 15 „ „	32	10	14	37	4,7	4,0	+ 17	20		158
		b) 85 „ 1 „ „ + 15 „ „	35	8	15	37	4,7	4,5	+ 4	20		
10	25. V.	a) 85 „ 1 „ „ + 15 „ „	33	8	13	37	3,4	3,2	+ 6	20		177
		b) 85 „ 1 „ „ + 15 „ „	31	5	10	37	3,4	3,3	+ 3	20		

Die methodischen Angaben sind in der Einleitung gegeben. Die Ergebnisse dieser Reihe habe ich in Tabelle II niedergelegt, in welcher ich über 24 Versuche berichte. In diesen Versuchen wurden als Lymphagogum Krebsmuskelextrakt, Blutegelextrakt und 9proz. Peptonlösung benutzt.

In dieser Versuchsreihe findet sich in einer ganzen Anzahl von Fällen eine recht beträchtliche Veränderung der Viskosität des Blutes der Vena hepatica gegenüber dem Blute aus der Vena porta. Die größten Veränderungen finden sich ausnahmslos nach Injektion von lymphagogen Substanzen. Die Veränderungen bestehen in Abnahme der Viskosität. Wir finden Abnahmen von der Größe von 15, 34, 22 Proz. usw. Es finden sich auch Abnahmen in der Viskosität des Blutes nach dem Durchgang durch die Leber, auch wenn kein Lymphagogum zugesetzt worden ist. Aber immer sind diese Abnahmen geringer, und manchmal findet sich gerade dann, wenn die Viskositätsverminderung nach In-

Tabelle Ic. 1. Viskosität am überlebenden Organ. (Rattenleber).

Nr. des Versuchs	Datum	Durchströmungsflüssigkeit	Durchströmungsdruck in mm Hg	Durchströmungsdauer in Min.	Durchströmungsmenge in ccm	Temperatur der Durchströmungsflüssigkeit in °C	Viskosität vor der Durchströmung	Viskosität nach der Durchströmung	± Proz. Zunahme oder Abnahme der Viskosität des Blutes aus der Vena hepatica gegen. über dem Blute aus der Vena porta	Temperatur in °C	Versuchstier	Körpergewicht in g
11	24. IV.	a) 85 ccm 1 proz. Na-Citratblut + 15 ccm Peptonlösung	34	24	10	36	4,8	4,5	+ 6	17	Weiße Ratte	170
		b) 85 „ 1 „ „ + 15 „ Na-Citrat	31	23	12	36	4,6	4,5	+ 2			
12	28. IV.	a) 85 „ 1 „ „ + 15 „ Peptonlösung	32	18	25	37	3,1	3,2	— 3	18		185
		b) 85 „ 1 „ „ + 15 „ Na-Citrat	30	16	23	37	2,9	2,9	0			
13	7. V.	a) 85 „ 1 „ „ + 15 „ Peptonlösung	31	5	19	36	2,8	2,8	0	20		190
		b) 85 „ 1 „ „ + 15 „ Na-Citrat	32	6	20	36	2,7	2,4	+ 12			
14	26. V.	a) 85 „ 1 „ „ + 15 „ Peptonlösung	33	11	20	37	3,6	3,4	+ 5	20		189
		b) 85 „ 1 „ „ + 15 „ Na-Citrat	30	12	19	37	3,5	3,4	+ 2			
15	25. V.	a) 85 „ 1 „ „ + 15 „ Peptonlösung	34	10	21	38	3,9	3,8	+ 2	20		200
		b) 85 „ 1 „ „ + 15 „ Na-Citrat	33	6	15	38	3,6	3,6	0			

jektion von Lymphagogum besonders groß ist, gar keine Viskositätsveränderung vor der Injektion.

Aus dieser Versuchsreihe ergibt sich, daß die intraportale Injektion eines Lymphagogums einen Prozeß stärker ausgeprägt werden läßt, der an und für sich beim Durchgang des Blutes durch die Leber sich ereignen kann. Die Viskositätsveränderung ist auffallenderweise gerade derjenigen entgegengesetzt, die man angesichts der Angaben machen könnte, daß die Lymphagoga den Filtrationsdruck in der Leber erhöhen und eine vermehrte Filtration in der Leber deshalb veranlassen sollen. Denn daraufhin müßte man eine Eindickung des Blutes, demnach eine Viskositätszunahme erwarten. Man könnte nun an eine Fehlerquelle denken, darin bestehend, daß die Injektion durch Verdünnung die Viskosität vermindert. Diese Fehlerquelle habe ich ausgeschlossen, indem ich genau die gleiche Menge isotonischer Kochsalzlösung injiziert habe. Hierbei trat die große Verminderung der Viskosität nicht ein, ja es konnte sogar jede Viskositätsveränderung ausbleiben.

Unabhängig davon, welche Erklärung man der Viskositätsverminderung geben will, ist die Tatsache der Viskositätsverminderung nicht in Einklang mit den mechanischen Vorstellungen über die Lymphebildung nach Injektion der spezifischen Lymphagoga zu bringen. Denn sowohl die ältere, wie auch die neuere mechanische Theorie läßt die Lymphbildung durch Filtration entstehen. Diese Filtration fördert aber eine Eindickung und Viskositätsvermehrung des Blutes.

Die Viskositätsverminderung würde sich unter der Annahme erklären, daß infolge von Flüssigkeitsaustritt aus den Leberzellen nicht allein das Lymphsystem mit Flüssigkeit überschwemmt wird, sondern auch das Blut verdünnt wird. Ganz ähnlich, wie es bei der Injektion von hypertonischer Salzlösung in das Blut geschieht. Mehr als andeuten läßt sich diese Erklärung nicht, es bedürfte mehr und anders gearteter Versuche, um diese Erklärung, die ich für möglich halte, wirklich zu beweisen.

Meine letzte Versuchsreihe beschäftigt sich mit den Folgen der Injektion von lymphagogen Substanzen in eine Körperbahn, auf die Viskosität von Körpervenenblut sowie auf die Atemzüge. Was die letztere betrifft, die Beeinflussung der Atemzüge, so wurde diese Untersuchung durch die in meiner früheren Arbeit gemachte Erfahrung angeregt, daß die Injektion von lymphagogen Substanzen die Atmung beeinflußt. In meiner früheren Mitteilung habe ich darauf hingewiesen, daß die anfängliche Drucksteigerung in der Pfortader bei intravenöser Injektion von lymphagogen Stoffen auf einer Beeinflussung der Atmung zu beruhen scheint. Die Beeinflussung der Viskosität von Körpervenenblut habe ich deshalb in den Bereich meiner Untersuchungen gezogen,

Tabelle IIb. 2. Viskosität am lebenden Tier. (Ratte).

Nr. des Versuchs	Datum	Injektionspräparate und Menge in ccm		Periode	Viskosität des Blutes an der Vena porta	Viskosität des Blutes an der Vena hepatica	± Proz. Zunahme oder Abnahme der Viskosität des Blutes aus der Vena hepatica gegen über dem Blute aus der Vena porta	Temperatur b. welcher d. Viskositätsbestimmung ausgeführt wurde, in °C	Versuchstier	Körpergewicht in g	Schicksal des Tieres während des Versuchs
1	2. IV.	10 proz. Krebsmuskelextrakt	0,3	a) Vor der Injektion	4,8	4,8	0	18	Weiße Ratte	233	Gesund
		„		b) Nach der Injektion	4,6	3,9	— 15				
2	3. IV.	10 „ „	0,3	a) Vor der Injektion	4,8	4,8	0	18		210	Tot*)
		„		b) Nach der Injektion	4,9	3,2	— 34				
3	4. IV.	10 „ „	0,3	a) Vor der Injektion	4,2	4,2	0	18		200	„ *)
		„		b) Nach der Injektion	4,0	3,2	— 20				
4	14. V.	10 „ „	0,3	a) Vor der Injektion	3,82	3,7	— 3	22		180	Gesund
		„		b) Nach der Injektion	3,7	2,87	— 22				
5	15. V.	10 „ „	0,3	a) Vor der Injektion	4,15	4,3	+ 3	22		193	„
		„		b) Nach der Injektion	4,0	3,7	— 7				
6	16. V.	10 „ „	0,3	a) Vor der Injektion	4,2	4,2	0	22		188	„
		„		b) Nach der Injektion	4,1	4,0	— 2				
7	17. V.	10 „ „	0,3	a) Vor der Injektion	3,9	3,9	0	22		235	„
		„		b) Nach der Injektion	3,8	3,5	— 7				
8	18. V.	10 „ „	0,3	a) Vor der Injektion	3,8	3,8	0	22		212	„
		„		b) Nach der Injektion	3,8	3,7	— 2				
9	19. V.	10 „ „	0,3	a) Vor der Injektion	3,7	3,6	— 2	22		233	„
		„		b) Nach der Injektion	3,7	3,4	— 8				
10	9. IV.	6 „ Blutegelextrakt	0,3	a) Vor der Injektion	4,8	4,8	0	19		210	„
		„		b) Nach der Injektion	4,7	4,0	— 14				
11	9. IV.	6 „ „	0,3	a) Vor der Injektion	3,4	3,4	0	18		193	„
		„		b) Nach der Injektion	3,3	3,2	— 3				
12	10. IV.	6 „ „	0,3	a) Vor der Injektion	4,3	4,0	— 6	18,5		188	„
		„		b) Nach der Injektion	4,4	3,6	— 18				
13	11. IV.	6 „ „	0,3	a) Vor der Injektion	4,2	4,2	0	18		199	„
		„		b) Nach der Injektion	4,0	3,3	— 17				
14	12. IV.	6 „ „	0,3	a) Vor der Injektion	3,8	3,6	— 5	19		194	„
		„		b) Nach der Injektion	3,7	3,2	— 13				

*) Sektion: rechte Herzkammer Luftembolie.

Tabelle IIb (Fortsetzung).

Nr. des Versuchs	Datum	Injektionspräparate und Menge in ccm	Periode	Viskosität des Blutes an der Vena porta	Viskosität des Blutes an der Vena hepatica	± Proz. Zunahme oder Abnahme der Viskosität des Blutes aus der Vena hepatica gegen über dem Blute aus der Vena porta	Temperatur in °C	Versuchstier	Körpergewicht in g	Schicksal des Tieres während des Versuchs
15	13. IV.	6 proz. Blutegelextrakt 0,3	a) Vor der Injektion	3,7	3,6	— 2	19	Weiße Ratte	225	Gesund
			b) Nach der Injektion	3,4	3,0	— 11				
16	14. IV.	6 „ „ 0,3	a) Vor der Injektion	4,8	4,3	— 10	19		210	„
			b) Nach der Injektion	4,6	3,8	— 17				
17	15. IV.	6 „ „ 0,3	a) Vor der Injektion	3,8	3,8	0	19		200	„
			b) Nach der Injektion	3,5	3,4	— 2				
18	22. V.	6 „ „ 0,3	a) Vor der Injektion	4,1	3,9	— 4	19		212	„
			b) Nach der Injektion	3,9	3,7	— 5				
19	6. VI.	9 „ Peptonlösung 0,3	a) Vor der Injektion	4,2	3,9	— 7	18,5		193	Tot *)
			b) Nach der Injektion	4,2	3,6	— 14				
20	6. VI.	9 „ „ 0,3	a) Vor der Injektion	3,9	4,0	+ 2	18		198	Gesund
			b) Nach der Injektion	3,8	3,3	— 13				
21	7. VI.	9 „ „ 0,3	a) Vor der Injektion	4,2	3,8	— 9	19		225	„
			b) Nach der Injektion	4,1	3,6	— 12				
22	8. VI.	9 „ „ 0,3	a) Vor der Injektion	3,5	3,3	— 5	18		230	„
			b) Nach der Injektion	3,4	3,3	— 2				
23	19. VI.	9 „ „ 0,3	a) Vor der Injektion	4,5	4,3	— 4	19		238	Tot *)
			b) Nach der Injektion	4,4	4,1	— 6				
24	16. VI.	9 „ „ 0,3	a) Vor der Injektion	4,0	3,8	— 5	19		205	„ *)
			b) Nach der Injektion	4,0	3,4	— 15				

*) Sektion: rechte Herzkammer Luftembolie.

weil ich feststellen wollte, ob die Viskositätsveränderungen, die ich in der voraufgehenden Reihe mitteilen konnte, spezifisch für die Leber oder allgemeiner Natur seien.

Die Ergebnisse dieser Versuche teile ich in Tabelle IV mit.

Tabelle IV. 3. Atemzüge und Viskosität (Kaninchen).

Nr. des Versuchs	Datum	Periode	Injektionspräparate in ccm	Mittlere Zahl der Atemzüge pro Minute vor der Injektion	Mittlere Zahl der Atemzüge pro Minute nach d. Injektion. Innerhalb d. ersten 5 Minuten	Viskosität des Blutes (aus Ohrvenen). Vor der Injektion	Viskosität des Blutes (aus Ohrvenen). Nach der Injektion	Versuchstier	Körpergewicht in kg
1	12. V.	1	Krebsmuskelextrakt 6	21	26	—	—	Kaninchen	1,92
		2	Peptonlösung 5	18	32	—	—		—
2	13. V.	1	Na Cl-Lösung 6	25	23	3,2	—		1,8
		2	Krebsmuskelextrakt 6	23	51	—	2,9		—
3	5. VI.	1	Na Cl-Lösung 5	21	19	3,3	3,0		1,8
		2	Krebsmuskelextrakt 5	22	29	3,4	2,8		—
4	5. VI.	1	Na Cl-Lösung 6	22	22	—	—		1,91
		2	Krebsmuskelextrakt 6	22	61	—	—		—
		3	Peptonlösung 6	32	47	—	—		—
5	6. VI.	1	Na Cl-Lösung 5	24	23	3,9	3,8		1,86
		2	Krebsmuskelextrakt 5	24	33	3,8	3,1		—
		3	Blutegelextrakt 6	24	31	4,1	3,5		—
6	8. VI.	1	Na Cl-Lösung 8	28	29	3,5	3,4		1,98
		2	Blutegelextrakt 8	29	75	3,4	2,9		—
7	8. VI.	1	Na Cl-Lösung 6	24	21	2,9	2,8		1,75
		2	Blutegelextrakt 6	21	133	2,8	2,4		—

Es ergibt sich, daß ausnahmslos die Injektion von lymphagogen Stoffen die Atmung beeinflußt, und zwar im Sinne einer starken Vermehrung der Atemfrequenz. Die Unterschiede sind oft sehr auffallender Natur, z. B. in Versuch 7 wurde die Zahl der Atemzüge in der Minute von 21 auf 133 vermehrt. Durch Injektion von Blutegelextrakt, durch Injektion von Peptonlösung finden sich Vermehrungen von 18 auf 32, von 32 auf 47 Atemzüge in der Minute.

Anders stand es, wenn ich zur Kontrolle NaCl injizierte. Die Injektion von NaCl-Lösung hat, wie es übrigens nicht anders zu erwarten war, bei einer richtigen Ausführung derselben keinen Einfluß auf die Atmung. Die hier beobachtete Reaktion ist um so beachtenswerter, als sie beim Kaninchen eintritt, einem Tiere, welches im übrigen gegenüber lymphagogen Stoffen sehr refraktär ist. Es ist der Schluß zulässig, daß die hier beschriebene Beeinflussung infolge Injektion von lymphagogen Stoffen eine unspezifische ist. Nichtsdestoweniger

ist ihre Berücksichtigung bei der Behandlung der Frage der Lymphbildung von Wichtigkeit, weil, wie ich schon in meiner früheren Arbeit zeigen konnte, gewisse mechanische Veränderungen des Leberkreislaufs recht gut überwiegend oder ausschließlich auf der Änderung der Atmung beruhen können.

Was die Viskosität des Blutes anbelangt, so war meist nach Injektion von lymphagogen Stoffen die Viskosität des Blutes etwas herabgesetzt, nicht aber nach den Kontrollinjektionen mit NaCl-Lösung. Auch hier handelt es sich offenbar um eine nicht spezifische Beeinflussung durch die lymphagogen Stoffe. Es muß wiederum an die Möglichkeit gedacht werden, daß die Viskositätsveränderung Ausdruck einer Permeabilitätsveränderung zwischen Blut und Geweben ist. Hierbei wird man sich erinnern, daß einige lymphagoge Substanzen auch im Körper nicht bloß in der Leber Permeabilitätsveränderungen hervorrufen können, wie wir das beispielsweise durch die Untersuchungen von *Meyer-Bisch* vom Tuberkulin wissen. Das Tuberkulin hat manche Eigenschaften mit dem lymphagogen Pepton gemeinsam.

Zusammengefaßt, sind die Resultate der vorstehenden Untersuchung die nachfolgenden:

1. Es wurde der Quellungsdruck des Blutes untersucht, welches durch die Leber hindurchgegangen war, und verglichen, ob ein Unterschied vorhanden sei ohne oder mit Zusatz von lymphagogen Stoffen.

2. Wenn sich nach Zusatz von lymphagogen Stoffen Änderungen des Quellungsdruckes fanden, so lagen sie alle in der Richtung eines leicht vermehrten Quellungsdruckes. Hieraus ergibt sich, daß keine Anhaltspunkte dafür vorliegen, die veränderte Lymphbildung in der Leber in Zusammenhang mit einer etwaigen Änderung des Quellungsdruckes zu bringen.

3. Es wurde bei Durchströmung der Leber am überlebenden Tiere die Viskosität des Blutes untersucht. Zusatz von lymphagogen Stoffen hatte keinen merklichen Einfluß auf die Viskosität des die Leber passierenden Blutes.

4. Es wurde eine Methode ausgearbeitet, um an lebenden Ratten die Viskosität des Blutes der Vena porta und der Vena hepatica zu untersuchen. In diesen Fällen führte die Injektion von lymphagogen Stoffen zu einer deutlichen Verminderung der Viskosität. Diese Verminderung war größer als diejenige durch Injektion von NaCl-Lösung. Diese Tatsache spricht gegen die Annahme, daß infolge von Injektion lymphagoger Stoffe eine Filtration aus den Kapillaren stattfindet.

5. Injektion von lymphagogen Stoffen in die Ohrvene eines Kaninchens, bewirkt im Blute gleichfalls Viskositätsverminderung.

Diese Tatsache spricht dafür, daß die beobachtete Viskositätsveränderung allgemeiner Natur ist und speziell nichts mit dem Pfortaderkreislauf zu tun hat.

6. Bei dieser Art Injektion wurde auch die Atmung mehr oder weniger stark beeinflußt. Diese Tatsache wird in Zusammenhang mit der in unseren Versuchen gemachten Beobachtung gebracht, wo Steigerung des Pfortaderdruckes und Beeinflussung der Atmung Hand in Hand gehen.

7. Alle gemachten Beobachtungen lassen sich gegen die mechanische Theorie der Lymphbildung verwerten.

Zur Wirkungsweise des Atophans.

Von

Adolf Wolff.

(Aus der medizinischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Altona.)

(Eingegangen am 4. September 1925.)

Mit 9 Abbildungen im Text.

Seit der Entdeckung des Atophans durch *Nikolaier* und *Dohrn* (1908) beschäftigten sich zahlreiche Untersuchungen mit seinem Wirkungsmechanismus, ohne zu einer einheitlichen Auffassung zu gelangen. Die Frage nach dem Angriffspunkt des Atophans bei seiner starken Wirkung auf die Harnsäureausscheidung ist aber gleichbedeutend mit der Frage nach dem Wesen der Gicht.

Hier wie dort stehen sich Auffassungen über renale und extrarenale Angriffsweise gegenüber, und zwar:

1. Extrarenal:
   a) gesteigerte Zersetzung Harnsäure bildender Substanzen (gespeicherter Nucleoside) (*Dohrn*);
   b) Angriff am Gewebe mit folgender Einschwemmung retinierter Harnsäure in den Kreislauf (*Griesbach* und *Samson*, *Gudzent*);
   c) vermehrter Nucleinabbau wie bei Leukämie und Pneumonie (*Mendel*).
2. Renal:
   Beeinflussung der Teilfunktion der Harnsäureausscheidung in der Niere (Tubuli) (*Garrod*, *Weintraud*, *Lichtwitz*, *Tannhauser*, *Steinitz*).
3. Humoral:
   Erhöhung der Wasserlöslichkeit der Harnsäure (Hydrotropie) (*Stern*).

Diese Vielheit der Auffassungen ist der Ausdruck für die Schwierigkeit des Problems. Zu seiner Lösung ist allein das Experiment am Menschen brauchbar, da der Purinstoffwechsel beim Tier völlig anders verläuft (*Wiechowski*). Die Untersuchungen am Menschen mußten lange Zeit unbefriedigend bleiben, denn bei dem Mangel einer zuverlässigen Methode zur quantitativen Bestimmung der Harnsäure in kleinen Blutmengen wurden zu weit gehende Schlüsse aus dem Verhalten der Urinharnsäure gezogen. Erst seit Einführung der *Maschke*schen Reaktion mit Phosphorwolframsäure durch *Folin* und *Denis* zur Bestimmung der Harnsäure in kleinen Blutmengen war eine Möglichkeit gegeben, den Wirkungsmechanismus des

Atophans experimentell am Menschen zu beforschen; dieser kann nämlich nur erschlossen werden durch fortlaufende Beobachtungen der Konzentrationen von Harnsäure in Blut und Harn. Die so gewonnenen Untersuchungsergebnisse waren auch nicht eindeutig; während alle Untersucher eine Vermehrung der Harnsäureausscheidung im Urin feststellten, weichen die Befunde über das Verhalten der Bluthamsäure voneinander ab. Ein Teil der Untersucher (*Gudzent*, *Maase* und *Zondek*, *Retzlaff*) fand eine Erhöhung der Bluthamsäure nach Atophan, die anderen (*Mc Lester*, *Folin*, *Tannhauser* und *Hempke*, *Steinitz*) berichten über eine Harnsäureerniedrigung im Blute, *Griesbach* und *Samson* gelangten auf Grund ihrer Versuche zu der Ansicht, daß bei kurzen Untersuchungsintervallen unabhängig von der Nierenwirkung des Atophans zunächst eine Einschwemmung von Harnsäuredepots in das Blut stattfindet.

Die bisherigen Untersuchungen wurden mit peroraler Atophanzufuhr angestellt. Besser geeignet schien uns intravenöse Injektion von Atophan zur Lösung der vorliegenden Frage; denn sie machte es einerseits möglich, unbekannte Einflüsse des Digestionstraktus zu vermeiden, andererseits eine schnelle und schlagartige Atophanwirkung zu sichern. In der dadurch bedingten Abkürzung der Untersuchungsintervalle bei Paralleluntersuchungen von Blut und Harn schien ein weiterer Vorteil der Methode zu liegen.

Versuchsanordnung.

Um die Reizwirkung der Nahrung auf die endogene Harnsäure (*Joel*) auszuschalten, blieben die Patienten während der Dauer des Versuchs nüchtern. Durch Untersuchungen der $(HS)_{Blut}$ (zweistündlich) und $(HS)_{Harn}$ (stündlich) an einem „Normaltag" wurden einwandfreie Vergleichswerte gewonnen. Dauer des Versuchs von 8 bis 1 Uhr vormittags. Am „Atophantage" wurde dann, nachdem um 8 Uhr morgens Blut und Harn entnommen war, Atophannatrium (10proz.) 0,5 bis 2,0 g intravenös injiziert; nach 20 Minuten wurde dann das Blut wie der Harn wieder untersucht. Weitere Untersuchungen wie am Normaltage. Der Harn wurde in ein mit Lithiumcarbonat beschicktes Glas entleert, um ein Ausfallen der Harnsäure zu verhindern.

Die Bluthamsäure wurde nach der Methode von *Folin* und *Denis* in der Modifikation von *Steinitz* im Serum bestimmt, die $(HS)_{Harn}$ nach der Methode von *Hopkins*, *Folin* und *Shaffer*.

Kurven und Tabellen.

Auf den Kurven bedeutet:

.... Harnsäurekonzentration im Blut

———————— ,, ,, Harn

— — — — — Diurese.

Nr. 1. *Heid.* 18 Jahre. Bronchitis.

Normaltag: Im Laufe des Vormittags Anstieg der normalen Blutharnsäure um 0,6 mg-Proz. Harnkonzentration an der unteren Grenze der Norm.

Atophantag: Bluthamsäure etwas höher als am Normaltage, sinkt nur um 0,2 mg-Proz. nach Atophan. $(HS)_{Harn}$ erhebt sich nach Atophan

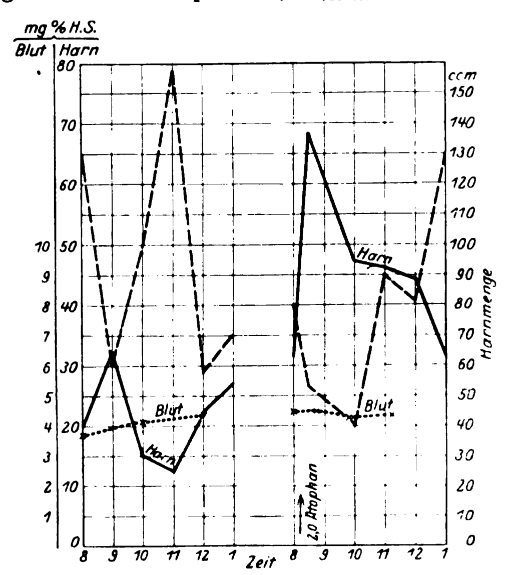


Abb. 1. *Heid, J.*, 18 Jahre. Bronchitis.

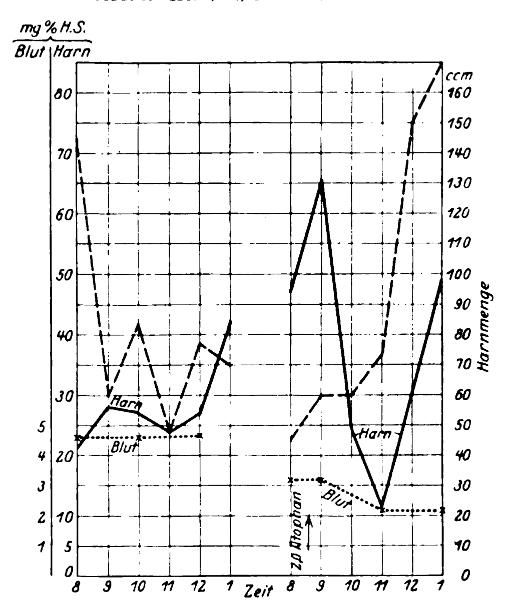


Abb. 2. *Marsau, Otto*, 37 Jahre. Bleivergiftung.

zu hohen Werten, um gegen Mittag zum Anfangswert zurückzukehren. Diurese am Atophantage etwas geringer als am Normaltage.

Nr. 2. *Marsau, Otto.* 37 Jahre. Bleischädigung.

Normaltag: Erhöhte Bluthamsäure bei geringer Harnsäureausscheidung.

Atophantag: Bluthamsäure vor Atophan niedriger als am Normaltage. Harnkonzentration wesentlich höher als am Normaltage. Nach Atophan Konzentrationssteigerung im Harn bei gleichbleibender Bluthamsäure; dann Abfall der $(HS)_{Harn}$ wie der $(HS)_{Blut}$, gegen Mittag Wiederanstieg der $(HS)_{Harn}$ zum Ausgangswert.

Nr. 3. *Eichhammer, J.* 22 Jahre. Bleivergiftung.

Normaltag: Normale $(HS)_{Blut}$, verändert sich kaum. Hohe $(HS)_{Harn}$.

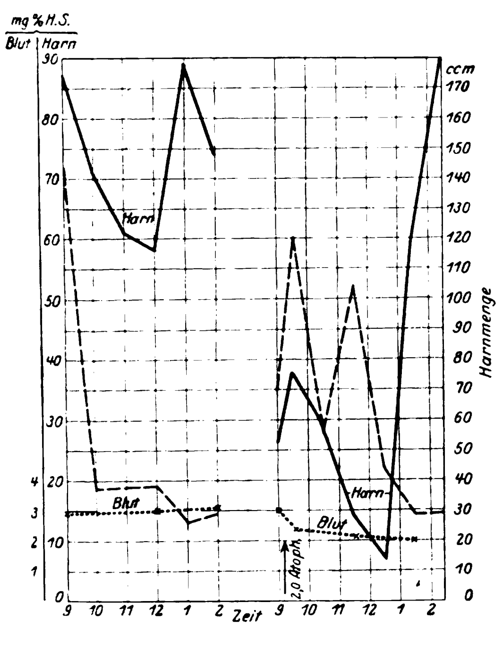


Abb. 3.
Eichhammer, J., 22 Jahre.
Bleivergiftung.

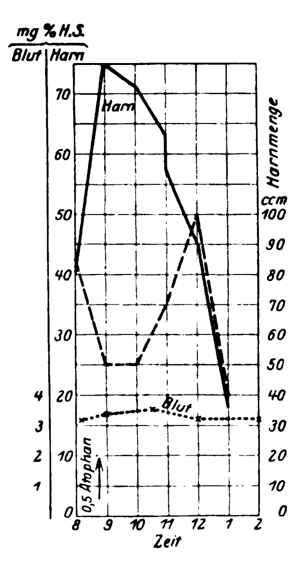


Abb. 4. *Meyer, Franz*, 66 Jahre.
Myodegeneratio cordis.
Arteriosklerose.

Atophantag: Nach Atophan sinkt $(HS)_{Blut}$ in 2 Stunden um 1 mg-Proz. $(HS)_{Harn}$ liegt an diesem Tage sehr niedrig. Ein deutlicher Anstieg zeigt sich erst gegen Mittag.

Nr. 4. *Meier, Franz.* 66 Jahre. Myodegeneratio cordis. Arteriosklerose.

Kein Normaltag.

Atophantag: Nach Atophan starker Anstieg der $(HS)_{Harn}$ bei fast gleichbleibender $(HS)_{Blut}$.

Nr. 5. *Wulf, Wilhelm.* 45 Jahre. Arthritis beider Fußgelenke.

Normaltag: Bluthamsäure normal, normale $(HS)_{Harn}$. Um den Harn konzentrierter zu machen, wurde 1 ccm Hypophen injiziert, wodurch eine Harnsäureausschwemmung bewirkt wurde.

Atophantag: Nach Atophan + Hypophen geringe Erniedrigung der Bluthamsäure wie der Urin-Harnsäure. Die Harnsäurekonzentration steigt

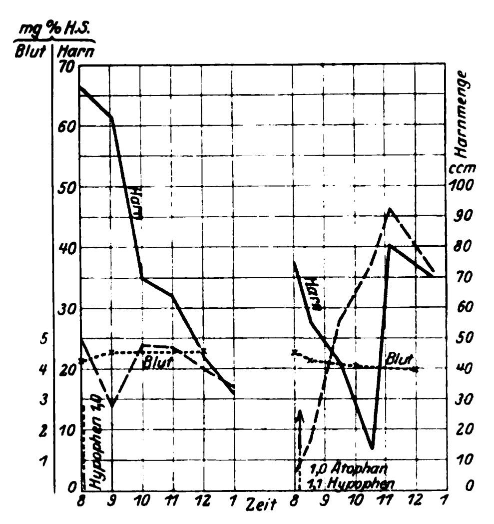


Abb. 5. *Wulf, Wilhelm,* 45 Jahre. Arthritis beider Fußgelenke.

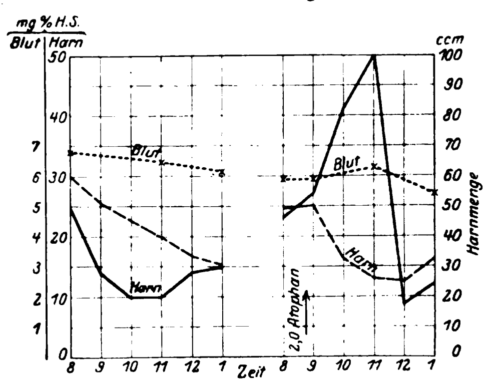


Abb. 6. *Peters, D.,* 43 Jahre. Polyglobulie. Asthma bronchiale.

erst gegen Mittag wieder an. Da schon am unmittelbar vorhergehenden Normaltage das Hypophen eine starke Ausschwemmung der Harnsäure bewirkt hat, ist eine deutliche Atophanwirkung in diesem Versuche nicht nachzuweisen.

Nr. 6. *Peters, D.* 35 Jahre. Asthma bronchiale, Polyglobulie. Nierenfunktion (Kochsalzkonzentrierung normal, Harnsäurekonzentrierung schlecht).

Normaltag: $(HS)_{Blut}$ sehr hoch, sinkt im Verlaufe des Versuchs um 0,7 mg-Proz. $(HS)_{Harn}$ an der unteren Grenze der Norm.

Atophantag: $(HS)_{Blut}$ liegt 1 mg-Proz. niedriger als am Normaltage. Nach Atophan zunächst unverändert, nach 2 Stunden vorübergehender Anstieg um 0,4 mg-Proz. Im Harn nach Atophan schon nach ½ Stunde starker Anstieg der (HS). Nach 3 Stunden starker Abfall.

Nr. 7. *Wesch, Hermann.* 58 Jahre. Arthritis urica. Hohe Bluthamsäure.

Normaltag: Blutkurve bleibt unverändert. Normale Harnkonzentrationen.

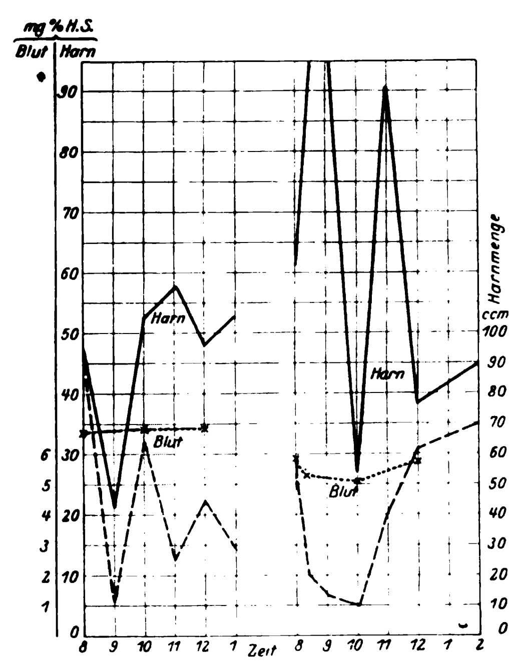


Abb. 7. *Wesch, Hermann,* 58 Jahre. Arthritis urica.

Atophantag: $(HS)_{Blut}$ vor Atophan 1 mg-Proz. niedriger als am Normaltage, sinkt nach Atophan etwas ab. $(HS)_{Harn}$ steigt nach Atophan zu sehr hohen Werten an, um dann wieder auf die Werte des Normaltages zurückzugehen.

Nr. 8. *Block, Willy.* 29 Jahre. Nephritis chronica. Sekundäre Schrumpfniere. Hypertonie. Nierenfunktion für Cl', N, HS sehr schlecht.

Normaltag: Hoher Bluthamsäurewert, der im weiteren Verlauf um 1 mg-Proz. sinkt. $(HS)_{Harn}$ an der unteren Grenze der Norm.

Atophantag: Die $(HS)_{Harn}$-Kurve verläuft am Atophantage parallel dem Normaltage, nur zeigen sich bedeutend größere Ausschläge. Die

Blutkurve fällt am Normaltage steil ab, während am Atophantage der Abfall weniger steil ist und von einem nochmaligen Anstieg gefolgt wird.

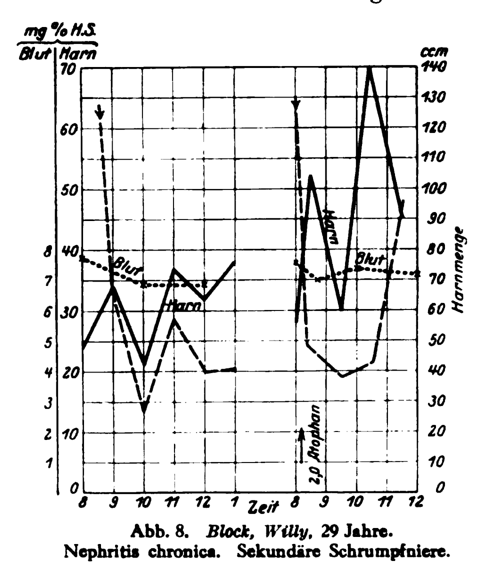


Abb. 8. *Block, Willy*, 29 Jahre.
Nephritis chronica. Sekundäre Schrumpfniere.

Nr. 9. *Lenz, Adolf*. 60 Jahre. Doppelseitige Hydronephrose (pathologisch-anatomisch nur ganz geringe Reste von Nierenparenchym erhalten).

Normaltag: Hohe Blutharnsäure, die während des Versuchs etwas ansteigt. Extrem niedrige $(HS)_{Harn}$, die tiefer liegt als die Blutharnsäure.

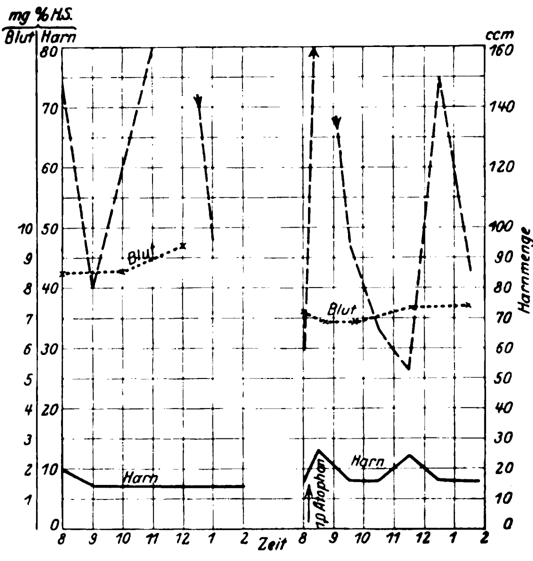


Abb. 9. *Lenz, Adolf*, 60 Jahre. Hydronephrose, doppelseitig.

Nr.	Name	Alter Jahre	Krankheit	Normaltag. Datum	Zeit	Harn Menge ccm	Harn Harnsäure mg-Proz.	Blut Harnsäure mg-Proz.		Datum	Zeit	Harn Menge ccm	Harn Harnsäure mg-Proz.	Blut Harnsäure mg-Proz.	
1	*Heid, J.* . . .	18	Bronchitis	13. I. 1925	8h	130	20	3,7		16. I. 1925	8h	80	32	4,5	
					9	62	32	—			8 25′	—	—	—	Atophannatr. 2,0
					10	100	15	4,1			8 45	53	73	4,5	
					11	158	13	—			9 45	41	47	4,3	
					12	58	22	4,3			10 45	90	46	—	
					1	71	27	—			11 45	81	44	4,3	
											12 45	130	31	—	
2	*Marsau, O.* . .	37	Bleischädigung	1. VIII. 1924	8	145	21	5,6		4. VIII. 1924	8	45	52	4,1	Atophannatr. 2,0
					9	60	28	—			9	60	70	4,1	
					10	84	27	5,6			10	60	24	—	
					11	49	24	—			11	73	11	3,1	
					12	78	27	5,6			12	150	32	—	
					1	70	42	—			1	170	49	3,2	
3	*Eichhammer, J.*	22	Bleivergiftung	25. III. 1924	9	143	88	2,9		27. III. 1924	9	70	26	3,0	
					10	37	71	—			9 15	—	—	—	Atophannatr. 2,0
					11	37	61	3,0			9 35	120	38	2,4	
					12	38	58	—			10 35	56	29	—	
					1	26	89	3,1			11 35	104	14	2,1	
					2	29	74	—			12 35	44	7	—	
											1 30	28	59	2,0	
											2 30	29	142	—	
4	*Meyer, F.* . .	66	Myodegeneratio cordis Arteriosklerose							26. VI. 1923	8 30	85	41	3,2	
											8 40	—	—	—	Atophannatr. 0,5
											9	50	75	3,4	
											10 30	50	71	3,5	
											12	70	63	3,2	
											1	100	45	—	
											2	40	18	3,2	
5	*Wulf, W.* . . .	45	Arthritis beider Fußgelenke	25. X. 1923	8	49	66	4,2	Hypophen 1,1	26. X. 1923	8 30	6	37	4,5	
					9	28	61	4,5			9	16	28	4,2	Atophannatr. 1,0 Hypophen 1,1
					10	48	35	—			10	56	21	4,2	
					11	47	32	—			11	74	7	—	
					12	40	22	4,5			12	92	39	3,9	
					1	34	16	—			1	72	35	—	

Nr.	Name	Alter Jahre	Krankheit	Normaltag. Datum	Zeit	Harn Menge ccm	Harn Harnsäure mg-Proz.	Blut Harnsäure mg-Proz.	Atophantag. Datum	Zeit	Harn Menge ccm	Harn Harnsäure mg-Proz.	Blut Harnsäure mg-Proz.	
6	*Peters, D.*	35	Asthma bronchiale, Polyglobulie	10. III.	8h	60	25	6,8	12. III.	8h	49	23	5,8	
				1924	9	51	14	—	1924	8 40'	—	—	—	Atophannatr. 2,0
					10	45	10	—		9	—	—	5,8	
					11	40	10	6,5		9 15	50	27	—	
					12	33	14	—		10	33	41	—	
					1	30	15	6,1		11	26	50	6,2	
										12	25	9	—	
										1	33	12	5,4	
7	*Wesch, H.*	58	Arthritis urica.	5. III.	8	95	48	6,7	17. III.	8	58	61	5,9	Atophannatr. 2,0
				1925	9	12	21	—	1925	8 20	21	88	5,3	
					10	65	53	6,8		9	14	138	—	
					11	25	58	—		10	10	27	5,1	
					12	45	48	6,9		11	40	90	—	
					1	28	53	—		12	62	38	5,7	
										1	—	—	—	
										2	70	45	—	
8	*Block, W.*	29	Nephritis chron. Sekundäre Schrumpfniere	3. III.	8	184	24	7,7	6. III.	8 15	200	28	7,5	
				1924	9	65	34	—	1924	8 25	—	—	—	Atophannatr. 2,0
					10	27	21	6,8		8 45	—	—	7,0	
					11	52	37	—		9 15	47	52	—	
					12	40	32	6,8		10 15	38	30	7,4	
					1	41	38	—		11 45	42	70	—	
										12 30	95	45	7,1	
9	*Lentz, Ad.*	60	Doppelseitige Hydronephrose	11. X.	8	150	10	8,5	16. X.	8	60	8	7,2	
				1923	9	80	7	—	1923	8 20	—	—	—	Atophannatr. 1,0
					10	112	7	8,5		8 45	195	13	6,9	
					11	160	7	—		9 45	95	8	6,7	
					12	200	7	9,3		10 45	66	8	—	
					1	95	7	—		11 45	53	12	7,3	
										12 45	150	8	—	
										1 45	86	8	7,3	

Atophantag: Bluthamsäure niedriger als am Normaltage. Nach Atophan vorübergehende, geringe Erniedrigung. Keine wesentliche Schwankungen in der niedrigen $(HS)_{Harn}$.

Der Fall *Lenz* ist dem von *Tannhauser* und *Hempke* mitgeteilten an die Seite zu stellen. Neben den übrigen Nierenfunktionen ist die Teilfunktion der Niere für Harnsäurekonzentration so schwer gestört, daß eine Konzentrationssteigerung selbst nach Atophan zu normalen Werten nicht mehr möglich ist, so daß die $(HS)_{Harn}$ oft unter der $(HS)_{Blut}$ liegt.

Aus diesen Versuchen ergibt sich folgendes: Nach intravenöser Injektion von 0,5 bis 2,0 Atophannatrium (10proz.) zeigt sich beim Vergleich der Kurven $(HS)_{Blut}$ und $(HS)_{Harn}$ mit dem Kurvenverlauf am Normaltage eine Steigerung der $(HS)_{Harn}$ durch Atophan, die oft bereits nach 20 Minuten nachweisbar ist, im weiteren Verlauf noch ansteigt, um dann zum Ausgangswert zurückzukehren oder unter ihn zu sinken.

Die $(HS)_{Blut}$-Kurve zeigt demgegenüber nach Atophan keine unmittelbare Veränderung. Es zeigt sich, daß auch ohne Applikation von Medikamenten oder Nahrung Schwankungen bis zu 1 mg-Proz. vorkommen. In zwei Versuchen (Nr. 2 und 3) sinkt bei starker Ausschwemmung im Harn die Bluthamsäure in kurzer Zeit um 1 mg-Proz. Diese Senkung tritt aber nicht früher ein als die Steigerung der $(HS)_{Harn}$.

Eine Konzentrationssteigerung im Blute nach Atophan ließ sich in unseren Versuchen nicht feststellen; diese wäre für die oben erwähnte extrarenale Angriffsweise zu fordern, und zwar müßte sie eher eintreten als die Vermehrung der Urinharnsäure.

Der Wert der früheren Untersuchungen wird durch die Nichtberücksichtigung des Nahrungsreizes und der physiologischen Schwankungen der Bluthamsäure beeinträchtigt. Auch in den kurzfristigen Versuchen von *Griesbach* und *Samson* fehlt der Vergleich mit Normaltagen; außerdem waren die Versuchspersonen nur „fast nüchtern".

Wir kommen damit zu der Auffassung, daß der Wirkungsmechanismus des Atophans bei intravenöser Injektion am nüchternen Menschen in einer Ausschwemmung der Harnsäure durch Konzentrationssteigerung im Urin besteht. Fraglich bleibt, ob diese Konzentrationssteigerung durch Angriff in der Niere selbst oder an dem ihr übergeordneten Nervensystem erreicht wird (*Tannhauser* und *Starkenstein*).

Literatur.

Ältere Arbeiten siehe bei *Schittenhelm* und *Ullmann*, Zeitschr. f. exper. Pharm. u. Pathol. **12**, 360. — *Kraus-Brugsch*, Bd. 1, Gicht. — *Tannhauser*, Therap. Halbmonatshefte 1921. — *Tannhauser* und *Hempke*, Klin. Wochenschr. Jahrg. 2, S. 65. — *Steinitz*, Münch. med. Wochenschr. 1914, S. 457; Therapie der Gegenwart 1922. — *Mendel*, Klin. Wochenschr. Jahrg. 1, S. 1261. — *Griesbach* und *Samson*, diese Zeitschr. **94**. — *Ernst Joel*, Klin. Wochenschr. Nr. 2, S. 2219, 2250 (daselbst Literaturangaben); Zeitschr. f. klin. Med. **95**. — *Folin*, *Berglund* und *Derick*, Journ. of Biol. Chem. **60**, Nr. 2. 1924. — *R. Stern*, diese Zeitschr. **150**.

Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung des Insulins auf die äußere Sekretion der Verdauungsdrüsen.

III. Mitteilung:

Die Beeinflussung der äußeren Sekretion des Pankreas durch Insulin.

Von

J. A. Collazo und **Minko Dobreff.**

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 7. September 1925.)

Mit 1 Abbildung im Text.

In einer früheren vorläufigen Mitteilung[1]) berichten wir kurz über Versuche, die sich mit der Wirkung des Insulins auf die äußere Sekretion des Pankreas beschäftigen. In der vorher erschienenen ersten und zweiten Mitteilung unserer Serie Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung des Insulins auf die äußere Sekretion der Verdauungsdrüsen wurde die Wirkung auf den Magen und die Leber schon nachgewiesen[2])[3]). Die hier folgende Arbeit stellt eine ausführliche Besprechung der oben erwähnten Insulinuntersuchungen auf die äußere Pankreassekretion dar.

Die ersten Untersuchungen mit Insulin auf die äußere Sekretion des Pankreas wurden von uns angestellt.

Erst später erschien die Arbeit von *Penau* und *Simonnet*[4]), in der sie neben der Wirkung des Duodenalsekretins auch die des Insulins auf die äußere Pankreassekretion, in einem Versuche am Hunde, untersucht haben. Sie geben für den betreffenden Versuch gar keine Methodik an, es ist aber anzunehmen, daß sie mit temporärer Fistel gearbeitet haben. Das Insulin hat bei ihrem Versuche weder eine aktive sekretorische, noch eine depressive Wirkung auf das Pankreas gezeigt. Gleichzeitig mit der eben zitierten

---

[1]) *Collazo* und *Dobreff*, Münch. med. Wochenschr. 1924, Nr. 48.
[2]) *Dieselben*, diese Zeitschr. **154**, H. 3/6, 1924.
[3]) *Dobreff*, ebendaselbst **154**, H. 3/6, 1924.
[4]) *Penau* und *Simonnet*, Bull. de la Soc. de Chemie biol. 1925, Nr. 1.

Arbeit veröffentlichten auch *Lambert* und *Hermann* (Nancy)[1]) Insulinversuche am Hunde mit temporärer Pankreasfistel. Die Insulininjektionen wurden intravenös gegeben. Das Insulin hat auch bei ihren Versuchen keine Veränderung der äußeren Sekretion des Pankreas gezeigt. In der im Anfang dieses Jahres in der Klinischen Wochenschrift erschienenen Arbeit von *Walter*[2]) wurden unsere Ergebnisse über die Insulinwirkung auf die äußere Pankreassekretion in dem Sinne bestätigt, daß er nach Insulininjektion einen Anstieg des Amylasegehaltes des Urins feststellen konnte.

Im Gegensatz zu den oben erst genannten Autoren fanden wir im akuten Versuch *eine geringe, aber doch deutliche Vermehrung der äußeren Pankreassekretion durch Insulin* mit unserer Kapillarmethode.

Das wirft ein neues Licht auf die Frage der Beziehungen der äußeren und inneren Sekretion, das von großem physiologischen Interesse ist.

Selbst wenn keine große Volumenvergrößerung des Saftes nach Insulin vorhanden wäre, so könnte andererseits der Diastasegehalt doch steigen; die Fermentwirkung ist eben nicht durch das Volumen des Saftes bedingt, sondern durch den Gehalt an wirksamer Substanz. Man muß sich fragen, ob durch Insulin nicht ein Einfluß auf den Fermentgehalt ausgeübt wird.

Wir haben noch in unserer ersten Mitteilung (l. c.) die Vermutung ausgesprochen, daß es sich vielleicht bei den excitosekretorischen Wirkungen des Insulins nicht um eine Nervenwirkung, sondern um eine unmittelbare Beeinflussung der Drüsen durch Insulin handeln könnte. Jetzt sind wir noch mehr geneigt, dieses anzunehmen, weil wir sahen, daß die Wirkung auf verschiedene Gebiete des Vagus verschieden ist (Magen, Leber, Pankreas).

Methodisches und Plan der Arbeit.

Wir stellten akute Versuche an. Objekt unserer Versuche war die äußere Pankreassekretion von Hunden. Damit jede digestive Reizung auf Pankreas ausgeschaltet wird, hatten unsere Versuchstiere 24 Stunden vor dem Versuche gehungert. Den so nüchternen Hunden wurde in der Äthernarkose (dabei etwa 2 Stunden vor der Operation 10 ccm einer 2proz. Morphiumlösung) nach der Laparotomie der Magen am Pylorus fest abgeschnürt. So wurde jede indirekte Reizung auf Pankreassekretion durch die sich eventuell im Magen befindende Salzsäure, die bei ihrem Eintritt ins Duodenum die Bildung von Duodenalsekretin bewirken könnte, ausgeschaltet. Dann wurde das Duodenum geöffnet und durch die freigelegte Papilla duodeni eine feine, lange, an allen Stellen gleich breite Glaskapillare in das untere Ende des Ductus wirsunguianus eingebunden. Die im unteren Ende des Ganges eingeführte Glaskapillare wurde mit dem

[1]) *Lambert* und *Hermann*, C. r. de la Soc. de Biol 92, Nr. 1, 1925.
[2]) *Walter*, Klin. Wochenschr. 1925, Nr. 4.

Pankreas horizontal bis zu Ende des Versuchs gehalten. Nach der Befestigung der Kapillare wurde das Bauchfenster grob mit einigen Nähten zugenäht, damit keine überflüssige Reizung auf Peritoneum und innere Organe ausgeübt wird. Der Eingriff erfolgte ohne strenge Asepsis. Bei gut gelungener Operation an nüchternen Hunden steigt anfänglich etwas die Saftsäule nach dem freien Ende der Kapillare zu, und dann bleibt sie konstant stehen. Es stand uns bei diesen, wie auch bei den anderen Versuchen auf Verdauungsdrüsen das von *Casimir Funk* in der biochemischen Abteilung des Hygienischen Instituts in Warschau hergestellte Insulinhydrochloridpräparat zur Verfügung. Die Insulininjektionen wurden intravenös an der freigelegten Vena femoralis dextra ausgeführt. Das allmähliche Vorrücken des Pankreassaftes in die Glaskapillare nach den Insulininjektionen wurde mit Zentimetermaß registriert (nicht in *Kubikzentimetern*!). *Es stellte sich noch innerhalb der ersten der intravenösen Injektion folgenden Minuten eine deutliche Steigerung der Saftsäule in der Kapillare ein.* Dabei muß die Verstopfung der Kapillare streng vermieden werden.

Experimente.

Bei dem ersten Hunde wurden zwei Versuche nacheinander angestellt. Nachdem die Glaskapillare eingebunden war und 10 Minuten lang die Saftsäule keine Veränderungen zeigte, spritzten wir dem in Narkose sich befindenden Hunde intravenös 9 Kanincheneinheiten Insulin ein. Gegen das Ende der der Insulininjektion folgenden 10 Minuten begann ein langsames Vorrücken der Pankreassaftsäule in der Kapillare, das allmählich an Stärke zunahm, um dann wieder allmählich die vor der Injektion herrschende Ruhe zu nehmen. Wir warteten etwa 20 Minuten nach dem Aufhören der durch Insulin ausgelösten Pankreassaftsekretion und injizierten dann abermals in dieselbe Vene 9 Kanincheneinheiten Insulin. Bei diesem zweiten Versuch trat die Insulinwirkung etwas früher als bei dem ersten Versuch auf, dabei erreicht die Höhe der ausgelösten Sekretion in einigen Zeitintervallen viel größere Dimensionen als bei dem ersten Versuch. Über die beiden Versuche gibt die Tabelle I Aufschluß.

Bei dem zweiten Hunde stellten wir drei Versuche nacheinander an. Nach der ersten Insulininjektion, die 6 Kanincheneinheiten entsprach, trat noch in den ersten 5 Minuten nach der Injektion das bei dem ersten Hunde schon beobachtete Vorrücken der Saftsäule auf. Diesmal war es aber von ganz schwacher Stärke. Eine Stunde nach der ersten Injektion injizierten wir zum zweitenmal noch 6 Kanincheneinheiten Insulin. Es stellte sich aber dieses Mal keine Wirkung ein. Die Saftsäule blieb 25 Minuten unverändert. Wir dachten an Verstopfung der Glaskapillare. Die gleich entfernte Kanüle war in Wirklichkeit durch geronnenes Blut vollkommen verstopft. Wir legten eine neue, etwa 50 Proz. breitere Glaskapillare in den Ductus wirsunguianus ein, und prompt stellte sich die Pankreassaftsekretion ein, die jeder

Tabelle I.

1. Hund, ♀, etwa 10 kg.

24. September 1924. Akuter Versuch. Wirkung der intravenösen Insulininjektion auf die äußere Pankreassekretion.

Zeit	Vorrücken des Pankreassaftes in der Glaskapillare in cm: für die angegebene Zeitperiode	Vorrücken des Pankreassaftes in der Glaskapillare in cm: in je 10 Minuten
12h45′ — 12h50′	0,0	0,0
12 50 — 12 55	0,0	
12h55′ 9 Kanincheneinheiten Insulin (in 1 ccm) intravenös (V. femoralis dextra)		
12h55′ — 12h58′	0,0	0,2
12 58 — 1 00	0,0	
1 00 — 1 02	0,1	
1 02 — 1 05	0,1	
1 05 — 1 10	0,2	0,4
1 10 — 1 15	0,2	
1 15 — 1 17	0,2	0,6
1 17 — 1 20	0,2	
1 20 — 1 23	0,1	
1 23 — 1 25	0,1	
1 25 — 1 26	0,1	0,4
1 26 — 1 30	0,3	
1 30 — 1 35	0,1	
1 35 — 1 37	0,1	0,4
1 37 — 1 40	0,0	
1 40 — 1 45	0,3	
1 45 — 1 47	0,2	0,5
1 47 — 1 52	0,2	
1 52 — 1 55	0,1	
1 55 — 1 59	0,2	0,4
1 59 — 2 00	0,0	
2 00 — 2 05	0,2	
2 05 — 2 11	0,2	0,2
2 11 — 2 15	0,0	
2 15 — 2 19	0,0	0,0
2 19 — 2 20	0,0	
2 20 — 2 25	0,0	
2 25 — 2 30	0,0	
2h 30′ 9 Kanincheneinheiten Insulin (in 1 ccm) intravenös (V. femoralis dextra)		
2h30′ — 2h35′	0,2	0,4
2 35 — 2 40	0,2	
2 40 — 2 45	0,1	0,1
2 45 — 2 50	0,0	
2 50 — 2 55	0,1	0,1
2 55 — 3 00	0,0	
3 00 — 3 05	0,0	0,3
3 05 — 3 10	0,3	
3 10 — 3 15	0,2	0,3
3 15 — 3 20	0,1	
3 20 — 3 25	0,0	0,2
3 25 — 3 30	0,2	
3 30 — 3 35	0,2	0,4
3 35 — 3 40	0,2	
3 40 — 3 45	0,3	0,3
3 45 — 3 50	0,0	
3 50 — 3 55	0,1	0,2
3 55 — 4 00	0,1	
4 00 — 4 05	0,0	0,0
4 05 — 4 10	0,0	
4 10 — 4 15	0,5	1,2
4 15 — 4 20	0,7	
4 20 — 4 25	1,4	1,8
4 25 — 4 30	0,4	
4 30 — 4 35	0,3	0,7
4 35 — 4 37	0,2	
4 37 — 4 40	0,2	
4 40 — 4 45	0,1	0,2
4 45 — 4 50	0,1	

Tabelle II.

2. Hund, ♀, etwa 11 kg.

1. Oktober 1924. Akuter Versuch. Wirkung der intravenösen Insulininjektion auf die äußere Pankreassekretion.

Zeit	Vorrücken des Pankreassaftes in der Glaskapillare in cm	
	für die angegebene Zeitperiode	in je 10 Minuten
1h15′ — 1h20′	0,0	
1 20 — 1 25	0,0	0,0
1 25 — 1 30	0,0	

1h30′ 6 Kanincheneinheiten Insulin (in 1 ccm destillierten Wassers) intravenös (V. femoralis dextra).

Zeit	für die angegebene Zeitperiode	in je 10 Minuten
1h30′ — 1h35′	0,2	0,3
1 35 — 1 40	0,1	
1 40 — 1 45	0,0	0,1
1 45 — 1 50	0,1	
1 50 — 1 55	0,0	0,1
1 55 — 2 00	0,1	
2 00 — 2 05	0,1	0,1
2 05 — 2 10	0,0	
2 10 — 2 15	0,0	0,0
2 15 — 2 20	0,0	
2 20 — 2 25	0,0	0,0
2 25 — 2 30	0,0	

2h30′ 6 Kanincheneinheiten Insulin (in 1 ccm destillierten Wassers) intravenös (V. femoralis dextra).

Zeit	für die angegebene Zeitperiode	in je 10 Minuten
2h30′ — 2h35′	0,1	0,1
2 35 — 2 40	0,0	
2 40 — 2 45	0,0	0,0
2 45 — 2 50	0,0	
2 50 — 2 55	0,0	0,0
2 55 — 3 00	0,0	

Die im Ductus Wirsunguianus eingeführte Glaskapillare ist durch geronnenes Blut vollkommen verstopft. Einlegung einer neuen, etwa 50 Proz. breiteren Glaskapillare.

Zeit	für die angegebene Zeitperiode	in je 10 Minuten
3h30′ — 2h35′	0,2	0,4
3 35 — 3 40	0,2	
3 40 — 3 45	0,4	0,6
3 45 — 3 50	0,2	
3 50 — 3 55	0,2	0,3
3 55 — 4 00	0,1	
4h00′ — 4h05′	0,3	0,5
4 05 — 4 10	0,2	
4 10 — 4 15	0,2	0,5
4 15 — 4 20	0,3	
4 20 — 4 25	0,2	0,4
4 25 — 4 30	0,2	
4 30 — 4 35	0,2	0,4
4 35 — 4 40	0,2	
4 40 — 4 45	0,2	0,4
4 45 — 4 50	0,2	

4h50′ 10 Kanincheneinheiten Insulin (in 5 ccm destillierten Wassers) intravenös (V. femoralis dextra).

Zeit	für die angegebene Zeitperiode	in je 10 Minuten
4h50′ — 4h55′	0,3	0,7
4 55 — 5 00	0,4	
5 00 — 5 05	0,5	1,0
5 05 — 5 10	0,5	
5 10 — 5 15	0,3	0,7
5 15 — 5 20	0,4	
5 20 — 5 25	0,2	0,5
5 25 — 5 30	0,3	
5 30 — 5 35	0,3	0,8
5 35 — 5 40	0,5	
5 40 — 5 45	0,5	0,8
5 45 — 5 50	0,3	
5 50 — 5 55	0,8	3,2
5 55 — 6 00	2,4	
6 00 — 6 05	1,0	1,7
6 05 — 6 10	0,7	
6 10 — 6 15	0,3	0,3
6 15 — 6 20	0,0	
6 20 — 6 25	0,0	0,0
6 25 — 6 30	0,0	
6 30 — 6 35	0,0	0,0
6 35 — 6 40	0,0	
6 40 — 6 45	0,0	0,0
6 45 — 6 50	0,0	

Wahrscheinlichkeit nach durch die Verstopfung der Kapillare zurückgehalten worden war. Bevor die ausgelöste Sekretion aufgehört hatte, injizierten wir zum drittenmal demselben Hunde 10 Kanincheneinheiten

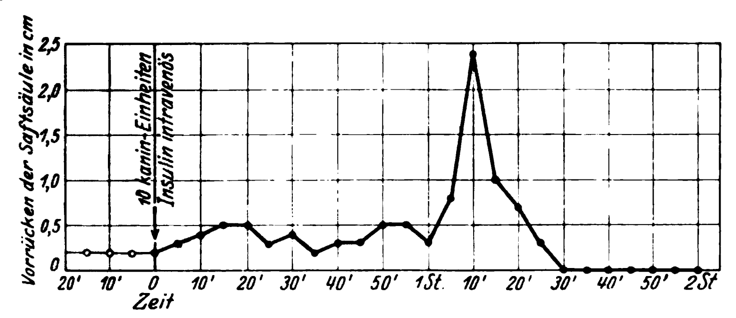


Abb. 1. Akuter Versuch. Hund, ♀, etwa 11 kg Wirkung der intravenösen Insulininjektion auf die äußere Sekretion des Pankreas bei abklingender Pankreassekretion (nach früherer intravenöser Insulininjektion).

Insulin. Dieser letzte Versuch läßt die positive excitosekretorische Wirkung des Insulins auf den Pankreas außer Zweifel. Die Ergebnisse der Versuche am zweiten Hunde sind in der Tabelle II und Abb. 1 angegeben.

Beitrag zur Frage: Ist die Fermentwirkung als eine kolloidchemische aufzufassen? (Untersuchungen an Pepsin.)

Von

H. W. van Urk.

[Mitteilung aus dem Marinehospital zu Willemsoord, Helder (Holland).]

(Eingegangen am 7. September 1925.)

Einleitung.

Die Lösung dieser fundamentellen, zurzeit aktuellen Frage stößt bekanntlich auf große Schwierigkeiten. Absolut „reine" Enzympräparate herzustellen, ist bis jetzt nicht gelungen, und ob die Lösung dieser Aufgabe einst gelingen wird, ist eine offene Frage. Allerdings ist sie durch die grundlegenden Untersuchungen von *Willstätter* und seinen Schülern in ein neues Stadium getreten. Weiter hat man es bei Enzymwirkungen oft mit kolloiden Substraten (Eiweißkörper, Stärke usw.) zu tun, wobei nebenbei bemerkt sei, daß gegen die *Loeb*sche Auffassung, daß namentlich die Eiweißkörper molekulardispers gelöst seien, eine Menge bekannter Tatsachen sprechen.

Sörensen hat in grundlegenden Untersuchungen den Unterschied angegeben zwischen „Säuregrad" und „Wasserstoffionenkonzentration" und in vielen Fällen die Abhängigkeit der Enzymwirkung von dem p_H festgestellt. Die Kurve, diese Abhängigkeit im Bilde bringend, hat man die „p_H-Aktivitätskurve" eines Enzyms genannt. Zurzeit liegen folgende Erklärungen dieser p_H-Aktivitätskurve vor:

1. *Michaelis* (1) nimmt an, daß die Fermente amphotere Elektrolyte seien, und daß der dissoziierte oder nicht dissoziierte Teil wirksam sein soll. In vielen Fällen hat er nachgewiesen, daß der Verlauf der Aciditätskurve eines Enzyms übereinstimmt mit der Dissoziationskurve eines amphoteren Elektrolyten. Allerdings scheint die *Michaelis*sche Hypothese nicht in der ursprünglichen Form zu handhaben zu sein.

2. *Fodor* (2) u. a. haben eine Erklärung der p_H-Aktivitätskurve versucht unter der Annahme, daß der Dispersitätsgrad des kolloidgelösten Ferments abhängig sei von dem p_H, und daß ein Optimum der Fermentwirkung bei bestimmtem p_H einem dort bestehenden

größten Dispersitätsgrad zugeschrieben werden soll. Diese Verfasser (*Michaelis, Fodor*) nehmen deshalb zur Erklärung einen Einfluß auf den Zustand (elektrochemischen oder kolloidchemischen) des Ferments an.

Andere Autoren dagegen suchen die Erklärung in einer Zustandsänderung des *Substrats. Northrop* (3) nimmt an, daß es z. B. die Protein*ionen* sind, welche vom Pepsin angegriffen werden. Die Reaktionsgeschwindigkeit soll der Menge des ionisierten Proteins proportional sein. Er fand Übereinstimmung zwischen den Titrationskurven von einigen Proteinen und den Digestionskurven. Meines Erachtens braucht ein Einfluß des Substrats, der ohne Zweifel bestehen wird, einen Einfluß des Fermentzustandes nicht auszuschließen.

Auch *Ringer* (4) hat in seiner „Quellungstheorie" einen Einfluß des Zustandes des Substrats angenommen, welche Hypothese gestützt wird durch die Tatsache, daß das Optimum-p_H für verschiedene Substrate verschieden ist. Das Optimum der Fermentwirkung soll verursacht werden durch ein Maximum der Quellung des Substrats.

Eine experimentelle Prüfung, ob die Erklärung durch die Annahme einer wechselnden Teilchengröße des Ferments berechtigt ist, schien mir wünschenswert. *Fodor* und *Abderhalden* haben in einigen Untersuchungen (5) das Ultramikroskop (bei polypeptidspaltenden Fermenten) und die Ultrafiltration angewendet. Ihre Resultate sind nicht unzweideutig. *Bechhold* (6), der Vater der letzten Methode, hat schon auf die vielen Schwierigkeiten in der Anwendung hingewiesen, namentlich bei physiologisch stark wirksamen Stoffen. Als eine Ergänzung der genannten Untersuchungen wurden von mir deshalb Viskositätsbestimmungen angewendet. Die Viskosität einer kolloiden Lösung wird von einer großen Anzahl Faktoren beeinflußt, einer derselben ist die Teilchengröße des Kolloids. Werden die übrigen in Frage kommenden Faktoren nicht geändert, so soll eine Dispersitätsänderung sich in einer Änderung der Viskosität der Lösung offenbaren müssen. Im voraus sei betont, daß man selbstverständlich solchen Bestimmungen keinen zu großen Wert beilegen soll aus schon genannten Ursachen, namentlich weil es keine absolut reine Enzympräparate gibt. Immerhin soll man auch dieses Hilfsmittel nicht vernachlässigen. Bis jetzt führte ich dergleichen Bestimmungen, im Zusammenhang mit anderen Untersuchungen, nur am Pepsin aus, und hoffe, dies künftig auf andere, besser zu reinigende Enzyme auszudehnen.

Experimentelles.

Die Bestimmungen wurden ausgeführt im Thermostaten bei 37° mit einem *Ostwald*schen Viskosimeter, und für die Bestimmungen das hochaktivste Präparat angewendet, das mir zur Verfügung stand, das aller-

dings nicht so rein war, wie das *Pekelharing*sche Pepsin. Die Viskosität wurde bestimmt von Lösungen von verschiedener Pepsin- (0,2- und 0,5 proz.) und Salzsäurekonzentration. Das Mittel von einigen Bestimmungen wurde stets genommen; bei einiger Übung sind die experimentellen Fehler nur gering; die Abweichungen betragen höchstens $^1/_5$ Sekunde.

Viskosität von Pepsinlösungen in Salzsäure von verschiedener Konzentration. Temperatur 37°.

Salzsäure Normalität	Ausflußzeit in Sekunden	Mit 0,2 proz. Pepsin I	Differenz	Mit 0,2 proz. Pepsin II (anderes Präparat) Differenz	0,5 proz. Pepsin	0,5 proz. Pepsin II	1 proz. Pepsin Differenz
0,01	46,2	47,2	1	0,8	3,0	3,0	6,4
0,02	46,2	47,4	1,2	1,2	3,6	3,4	6,8
0,05	46,4	47,4	1,0	0,8	3,2	3,2	6,4
0,1	46,4	47,6	1,2	1,0	2,8	2,8	6,4
0,25	47,2	48,0	0,8	0,6	2,6	2,4	5,8
0,5	47,4	48,4	1,0	1,0	3,0	2,2	5,6
1,0	48,2	49,4	1,2	1,2	2,6	2,4	5,2

Die Ausflußzeit für destilliertes Wasser des Viskosimeters war 46 Sekunden. Die unter „Differenz" aufgeführten Werte sind die Unterschiede zwischen der Ausflußgeschwindigkeit der Salzsäure und von Salzsäure derselben Stärke, worin Pepsin gelöst worden war.

Die größte Viskosität einer Pepsinlösung liegt deshalb bei $p_H = 1,7$ (= 0,02 n), wobei die geringe Änderung des p_H durch das aufgelöste Pepsin außer acht gelassen ist. *Sörensen* fand das Optimum der Digestion für Pepsin bei $p_H = 1,6$ bis 1,5 und *Michaelis* 1,82 bzw. 1,4. *Nach meinen Bestimmungen fällt das Optimum der Digestion zusammen mit der größten Viskosität.* Ein Minimum der Viskosität fand ich bei 0,25 bis 0,5 n Salzsäure, d. i. ein p_H von 0,6 bis 0,3.

Eine Erklärung von Viskositätsunterschieden ist nicht einfach (7). *Ostwald* nennt zehn Faktoren, welche die Viskosität beeinflussen können. In diesem Falle wurden Temperatur, Konzentration usw. konstant gehalten. Nur Änderung des Dispersitätsgrades, Solvatbildung und Ionisation kommen daher in Frage. Man könnte sich eine größte Viskosität der Lösung denken bei einem Maximum von Hydratation, wie bei lyophilen Kolloiden der Fall und von *Ringer* für das Substrat angenommen ist. Oder wie *Pauli* dies für Eiweißkörper angenommen hat, daß das Maximum der Viskosität durch Bildung von stark hydratisierten Ionen oder Ionenkomplexen verursacht wird. *Northrop* nimmt an, daß die Eiweiß*ionen* von Pepsin gespalten werden. Aus meinen Versuchen hätte man schließen können, daß es auch die Pepsin*ionen* sind, welche die Eiweißionen spalten. Ohne Zweifel hat man aber an ein Zusammengehen von elektrochemischen und kolloidchemischen Prozessen zu denken. Nebenbei sei bemerkt, daß aus der Tatsache, daß die Viskosität bei dem Optimum von Digestion am größten ist,

abgeleitet werden kann, daß das angewendete Pepsin sehr rein war. Sonst würde eben beim Digestionsoptimum die Viskosität schnell durch Verdauung des Eiweißes abnehmen.

Einfluß von Neutralsalzen auf die Pepsinaktivität.

Über den Einfluß von Neutralsalzen und namentlich deren Anionen auf die Pepsinaktivität besteht bei verschiedenen Autoren keine Übereinstimmung. Ältere Untersuchungen, wie von *Levites*, bedürfen ohne Zweifel einer Revision, weil dem Unterschied zwischen „Säuregrad" und p_H keine Rechnung getragen ist. Die Annahme von einigen Autoren, wie *Temminck Groll* (8), die ohne weiteres die Wahrnehmungen von *Levites* als richtig angenommen haben, daß es sich bei dem Neutralsalzeinfluß (welcher also nicht eindeutig festgestellt worden war) um eine Änderung der Teilchengröße des Ferments handelt, ist also vorgreiflich. Neuere Untersuchungen, wobei das p_H während des Versuchs konstant gehalten war, ergaben keinen Einfluß der Neutralsalze auf die Pepsinwirkung. *Guyemant* (9) fand, daß das Optimum nicht abhängig sei von der gewählten Säure. Auch nach *Michaelis* und seinen Schülern ist ausschließlich die [H]-Konzentration bestimmend. *Northrop* (l. c.) fand ebenfalls bei gleichem p_H bei verschiedenen Säuren die Digestion gleich groß, also keine Andeutung von „antagonistischer" Salzwirkung. *Abderhalden* und *Fodor* (l. c.) dagegen leiten aus ihren Versuchen einen Einfluß der Neutralsalze ab, welcher von einer komplexen Art sein soll. Nach ihrer Auffassung soll der Zustand des Fermentkolloids von zugefügten Elektrolyten abhängig sein, ebenso wie *Hooker* und *Fischer* nachgewiesen haben, daß die Milchsäure stärker „quellend" wirkt wie manche starke anorganische Säure.

Oppenheimer (10) bemerkt schon, daß Salze von schwachen Säuren schon deshalb schädlich wirken, weil wegen Umsetzung mit der freien Salzsäure die [H]-Konzentration abnimmt.

Bei der Beurteilung des Salzeinflusses hat man deshalb verschiedenen Faktoren Rechnung zu tragen:

1. Direkte Änderung der [H]-Konzentration durch das zugefügte Salz. Diese ist nach den Messungen von *Sörensen* (11) gering (0,01 n HCl $= p_H$ 2,01, 0,01 n HCl + 0,1 n KCl $= p_H$ 2,01 und mit 0,3 n KCl = 2,05).

2. Umsetzung von Salzen von schwachen Säuren mit der Salzsäure und deshalb Abnahme des p_H.

3. Einfluß des Salzes auf das kolloide Substrat (Erhöhung oder Verringerung der Quellung).

Um den letzten Einfluß auszuschalten, habe ich den Einfluß von einer Anzahl Salzen auf die Viskosität von Pepsinlösungen direkt untersucht. Sollte es einen Einfluß von Neutralsalzen auf die Pepsinaktivität

geben, verursacht durch Dispersitäts- und Hydrationsänderung des kolloiden Ferments, so sollten dergleichen Änderungen sich offenbaren müssen in einer Änderung der Viskosität der Lösungen.

Viskositätsänderung von Pepsinlösungen durch Neutralsalze.
Temperatur 37°.

Konz. NaCl mol.	Ausflußzeit in 0,01 n Salzsäure in Sekunden	Mit Pepsin 0,2 proz. *D*	Mit Pepsin 0,5 proz. *D*	Bei Aufbewahrung bei Zimmertemperatur 0,5 proz. Pepsin	
				nach 24 Stdn.	nach 3 × 24 Stdn.
1/8	46,8	0,8	3,0	— 0,4	
1/4	46,8	1,4	3,4	— 0,4	
1/2	47,4	1,2	3,4	— 0,2	
3/4	48,0	1,8	4,0	— 0,4	— 0,2
1	48,6	1,2	3,8	+ 0,2	+ 0,2

In den zwei letzten Spalten sind die Differenzen mit einer frisch bereiteten Lösung aufgeführt.

Bei Aufbewahrung ändert sich die Viskosität nur wenig; eine geringe Abnahme ist zu konstatieren.

Der Einfluß der Natriumchloridkonzentration ist wenig regelmäßig. Bei m/4 findet man scheinbar erst ein Maximum (s. auch die folgende Tabelle mit n/10 Salzsäure und 0,5 proz. Pepsin).

Konz. NaCl mol.	Ausflußzeit in 0,1 n HCl	Mit Pepsin 0,2 proz. *D*	Mit Pepsin 0,5 proz. *D*	Bei Aufbewahrung bei Zimmertemperatur		
				0,2 proz. *D*		0,5 proz. *D*
				nach 2 × 24 Stdn.	nach 4 × 24 Stdn.	nach 40 Stdn.
1/8	46,6	1,4	2,8	— 0,2	— 0,2	+ 0,2
1/4	47,0	1,4	3,0	— 0,2	— 0,6	0
1/2	47,6	1,4	3,2	0	— 0,4	0
3/4	48,2	1,8	3,0	— 0,4	— 0,6	0
1	49,0	1,6	3,0	— 0,6	— 0,6	0

Einige Salze wurden ebenso untersucht wie Natriumchlorid. Nachstehend findet man nur eine der Tabellen, nämlich die Resultate für 0,5 proz. Pepsin in n/10 Salzsäure.

Vergleichung der Unterschiede in Ausflußzeit von Pepsinlösung unter dem Einfluß von einigen Neutralsalzen. 0,5 proz. Pepsin in n/10 Salzsäure.
Temperatur 37°.

Konzentration des Salzes mol.	NaCl	K_2SO_4	KJ*)	KCl	KBr	KNO_3	KCNS
1/8	2,8	2,8	3,4	3,0	3,2	3,2	3,2
1/4	3,0	3,0	3,0	3,2	3,0	3,4	3,0
1/2	3,2	3,6	2,6	3,2	3,2	3,2	3,2
1	3,0	—	2,4	3,0	2,8	2,4	2,0

*) Die Lösung färbte sich stark gelb, wodurch vielleicht die gefundene Unregelmäßigkeit erklärt wird.

Erst wurde die Viskosität bestimmt von n/10 Salzsäure, worin die angegebenen Mengen der Salze gelöst worden waren. Dann wurden denselben Lösungen 0,5 proz. Pepsin zugefügt. Die in der Tabelle angeführten Zahlen sind die Differenzen der in diesen beiden Fällen gefundenen Ausströmungszeiten.

Am wahrscheinlichsten scheint mir zu sein, daß durch die Salze der schwachen Säuren das p_H geändert wird durch Umsetzung mit der Salzsäure, was eine Änderung der Viskosität der Pepsinlösung zur Folge hat (s. oben: Einfluß des p_H auf die Viskosität von Pepsinlösungen). Zur Erklärung dieser Viskositätsänderung könnte man die Theorien von *Michaelis* und *Pauli* heranziehen und eine Dissoziationsänderung annehmen.

Bis zu einer Konzentration der Salze von m/2 fand ich also keine Viskositätsunterschiede von den Anionen bewirkt. *Diese Resultate stimmen durchaus überein mit den Wahrnehmungen von Michaelis und Northrop, welche Autoren keinen Einfluß der Anionen auf die Pepsinaktivität konstatierten.* Wenn ein Einfluß von Neutralsalzen besteht, was bis jetzt nicht eindeutig nachgewiesen wurde, so ist jedenfalls eine Änderung der Teilchengröße des Pepsins nicht die Ursache davon.

Es wäre wünschenswert, dergleichen Versuche auch mit anderen, besser zu reinigenden Enzymen auszuführen. In einer späteren Mitteilung hoffe ich darüber zu berichten.

Literatur.

1) *Michaelis*, Die Wasserstoffionenkonzentration (Berlin, Julius Springer). — 2) *Fodor*, Fermentforschung VI, 1922, S. 248; Fermentforschung III, 1920; s. auch seine „Fermentprobleme" (Steinkopff). — 3) *Northrop*, Journ. of General Physiol. **1** bis **5**; s. auch ein zusammenfassendes Referat „Die Naturwissenschaften 1923, S. 713. — 4) *Ringer*, Onderzoekingen Physiologisch Laboratorium. Utrecht 1915. — 5) l. c. — 6) *Bechhold*, Zeitschr. f. physik. Chem. 1907, S. 357; **64**, 328, 1908. — 7) Siehe unter anderem *Bungenberg de Jong*, Rec. d. Trav. chim. Pays.-Bas. 1, 1923. — 8) *A. Fodor*, und *Eichwald*, Die physik.-chem. Grundlagen der Biologie. Berlin, Julius Springer. — 9) *Guyemant*, diese Zeitschr. **105**, 155, 1920. — 10) *Oppenheimer*, Die Lehre von den Fermenten und ihre Wirkungen. — 11) *Sörensen*, Enzymstudien, diese Zeitschr. **7**, 45, 1908; **21**, 131, 1909.

Der physiologische Arsengehalt des Harns und damit zusammenhängende Fragen. I.

Von

Ivar Bang †.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 10. September 1925.)

Einleitung.

Will man zu der Frage Stellung nehmen, ob überhaupt eine chronische Arsenvergiftung vorkommt, die auf der Aufnahme von Arsen aus arsenhaltigen Tapeten, Teppichen, Kleidern usw. beruht, so hat man in den klinischen Symptomen der Krankheit keine durchaus charakteristischen Kennzeichen, die exakte Beweise liefern können. Daher ist die Differentialdiagnose zwischen einer eventuellen Arsenvergiftung und anderen Krankheiten — namentlich solchen nervöser Art — ein diagnostisches Problem, das bisweilen allerhand Schwierigkeiten bereiten kann.

In dem Gefühl, daß das subjektive Moment in der Beurteilung in diesem Falle eine dominierende Rolle spielen kann, hat man nach objektiveren Anhaltspunkten als Beweis für das Bestehen einer Arsenvergiftung gesucht. Einen solchen Anhaltspunkt glaubt man in dem Nachweis einer *vermehrten Arsenausscheidung im Harn* gefunden zu haben.

Die Frage nach dem Arsengehalt des Harns ist auf jeden Fall von so wesentlicher Bedeutung, daß eine eingehende Untersuchung wünschenswert erschien. Nachdem eine exakte Methode zur Arsenbestimmung im Harn ausgearbeitet worden war (vgl. S. 195), wurden Untersuchungen dieser Frage am medizinisch-chemischen Institut in Lund vom Verfasser unter Mitwirkung der Assistenten fil. lic. *Lizzie Petterson-Björck* und fil. mag. *Dagmar Wendel* angestellt.

Die erste Frage, die eine Beantwortung erheischte, war, ob der normale Harn überhaupt Arsen enthält, und wenn dies der Fall ist, wie groß diese physiologische Arsenmenge sein kann, oder mit anderen Worten, es galt die physiologische Variationsbreite des Arsens im Harn bei verschiedenen Individuen zu bestimmen. In nahem Zusammenhang damit steht die Frage, ob die Arsenmenge bei derselben Person

konstant ist oder wechselt. Und drittens, wenn die Arsenmenge wechselt, was kann die Ursache dafür sein? Dieses letztere Problem umfaßt wieder mehrere Einzelfragen. Nimmt man an, daß der Arsengehalt des Harns wechselnd ist, und daß die Ursache dafür in dem Arsen zu suchen ist, das zufällig mit der Nahrung aufgenommen wird, so hat man erstens nachzuweisen, daß Arsen mit der Nahrung aufgenommen wird, und daß die verschiedenen Nahrungsmittel wechselnde Arsenmengen enthalten, zweitens daß der Arsengehalt des Harns sich mit der Nahrung ändert, und schließlich, daß überhaupt Arsen, das in den Darmkanal eingeführt wird, auch wirklich resorbiert und ganz oder teilweise durch den Harn ausgeschieden wird. Das letzte Problem ist nicht das unwichtigste, da man sich sehr wohl denken kann, daß das eingeführte Arsen nicht oder jedenfalls nur sehr unvollständig ins Blut aufgenommen wird, sondern vielmehr mit den Exkrementen abgeht. Oder auch, daß es im Darm resorbiert, aber wieder dorthin ausgeschieden wird und mit den Fäzes abgeht (wie es bei dem Eisen der Fall ist). Ferner wäre es denkbar, daß das Arsen, wenn es ins Blut aufgenommen ist, nicht gleich mit dem Harn ausgeschieden wird, sondern in einem oder mehreren Organen deponiert im Körper zurückbleibt. Tatsächlich finden sich in der Literatur mehrere Angaben, die als Stütze für diese Auffassung herangezogen werden können. Der Arsengehalt des Harns — falls Arsen normalerweise darin vorkommt — könnte möglicherweise auch auf anderen Ursachen beruhen, z. B. darauf, daß Arsen aus der Luft, die Arsen enthalten kann, aufgenommen wird (eine Möglichkeit, die durch einzelne Untersuchungen gestützt wird).

Aus dem Gesagten ergibt sich, daß nur systematische, in größerem Umfang ausgeführte Untersuchungen eine exakte Lösung dieser Probleme bringen konnten, soweit nicht frühere Untersuchungen zu befriedigendem Abschluß geführt hatten. Die folgende Übersicht über die Literatur auf diesem Gebiet soll hierauf Antwort geben. Wenden wir uns zunächst der Frage zu, ob der Harn des Menschen normalerweise Arsen enthält, und bejahendenfalls, wie groß die Menge ist, so sind die Angaben darüber äußerst verschieden, insofern einige Autoren glauben, Arsen als normalen Bestandteil des Harns nachgewiesen zu haben, andere dagegen dies kategorisch bestreiten. Noch auffallender ist indessen, daß die Angaben über den Arsengehalt des normalen Harns so spärlich und die Untersuchungen so mangelhaft sind. Eine große Reihe Autoren hat Arbeiten über den Arsengehalt des Harns bei Vergiftungsfällen veröffentlicht, aber verhältnismäßig wenige haben der Frage einen Gedanken geschenkt, ob die Arsenmenge, die es ihnen gelang nachzuweisen, tatsächlich eine über die Norm hinausgehende Ausscheidung darstellt oder nicht. Wenn diese Frage zur Diskussion

gestellt wird, so ist meist oder so gut wie immer der Unterschied zwischen dem normalen und dem übernormalen Arsengehalt so unbestimmt angedeutet, daß es rein auf dem subjektiven Urteil beruht, ob das Vorkommen als ein normaler oder übernormaler Arsengehalt betrachtet werden soll. Die Ursache dafür dürfte sein, daß die Untersuchungsmethode so mangelhaft war, daß man sich entweder einfach mit dem qualitativen Nachweis oder höchstens einer annähernden Schätzung der Quantität begnügen mußte.

Im folgenden wird zunächst eine Übersicht über frühere Untersuchungen über den Arsengehalt des normalen Harns gegeben werden. Darauf werden die Resultate mitgeteilt, die sich in der Literatur über die Frage der Ausscheidung von Arsen im Harn bei *chronischer Arsenvergiftung* finden. Schließlich werden eigene Untersuchungsergebnisse vorgelegt, die das Vorkommen von Arsen im normalen Harn bei verschiedenen Individuen sowie bei einem Individuum während längerer Zeit betreffen. Unter Zugrundelegung dieses Materials soll die Frage nach dem Verhalten des Arsens bei chronischer Arsenvergiftung beurteilt werden.

Historische Übersicht über den Arsengehalt des Harns.

Shattuch[1]) und *Putnam*[2]), die Untersuchungen bei einer großen Menge Individuen angestellt haben — 48 Personen in einer Serie und 150 in einer anderen —, fanden, daß die Ursache für den Arsengehalt des Harns in 30 Proz. der Fälle auf Arsenvorkommen in Hausgerät oder anderen Gebrauchsgegenständen beruhte. *Worcester*[3]) kam zu einem ähnlichen Resultat. *Kossa*[4]) fand in seinem eigenen Harn und dem einer anderen Person nur Spuren von Arsen, obgleich nicht weniger als 8 bis 10 Liter Harn zur Analyse verwendet wurden. *Richter*[5]) fand den Harn gesunder Personen — Ärzte und Studenten in Berlin — frei von Arsen. Untersucht wurde der Harn von 20 Personen. 1½ Liter Harn wurden zur Analyse verwendet, wobei nach Verbrennung mit Kaliumchlorat nach *Marsh* untersucht wurde. Setzte *Richter* dagegen zum Harn „einige Körnchen" Arsenik zu, erhielt er positive Reaktion. In Frankreich fand *Gautier* mit seiner keineswegs fehlerfreien Methode Arsen im normalen Harn. *Gautier* teilt nichts darüber mit, ob die Versuchsindividuen vorher Arsenik eingenommen hatten. Im Gegensatz zu *Gautier* und *Putnam* führt *Bloemendal*[6]) an, daß die Reagenzien möglicherweise nicht arsenfrei gewesen sind. *Bloemendal* selber findet bei Untersuchung seines eigenen Harns (5 Liter) einen Arsenspiegel, 0,0005 mg Arsen entsprechend. Eine Person, die sich viel in einem Laboratorium aufhielt, wies dagegen 0,1 bis 0,2 mg in 250 ccm Harn auf.

---

1) *Shattuch*, Med. News 1893, S. 1589.
2) *Putnam*, Bost. med. and surg. journ. 1890, S. 1422.
3) *Worcester*, ebendaselbst **123**, 421; **124**, 623.
4) *Kossa*, Malys Jahresber. 1894.
5) *Richter*, Vierteljahresber. f. ger. Med. 1898, S. 409.
6) *Bloemendal*, Dissertation, Leyden 1908.

Aus England liegt eine beachtenswerte Untersuchung von *Thomson*[1]) vor, der den Harn teils von Personen, die in den großen Fabrikgebieten wohnten, teils von solchen, die am Meere in frischer Luft lebten, untersuchte. Die Resultate sind: Manchester 14 bis 143 mg Arsen pro Liter; St. Helens (Glasfabriken) 36 bis 48 mg, Swansea 20 bis 159 mg, Sheffield 14 bis 1430 mg (!!). Dagegen war der Harn von Personen, die in St. Annes on the Sea wohnten, frei von Arsen. Eine Erklärung für diese Gegensätze können möglicherweise die Untersuchungen von *Harkins*[2]) geben, der in 1 kg Gras aus der Umgebung einer Kupferhütte in Amerika nicht weniger als 1,59 g As_2O_3 fand. *Baugh*[3]) berechnet, daß pro Tag mit dem Rauche von dieser Hütte etwa 55000 Pounds Arsenik in die Luft gehen (pound = 373 g). Man ersieht daraus leicht — auch wenn es sich um Ausnahmeverhältnisse bei dieser Hütte handelt —, welche Mengen mit der Luft und auf andere Weise, z. B. als Verunreinigungen der Nahrung oder als Bestandteil dieser selbst, von den Einwohnern von Fabrikzentren und deren Umgebungen in den Organismus aufgenommen werden können.

Gehen wir nun zu der Frage der Arsenausscheidung im Harn bei der *chronischen Arsenvergiftung* über, so liegen namentlich aus älterer Zeit, wo Arsenikfarben zu Tapeten und Anstrichfarben in Wohnräumen verwendet wurden, recht zahlreiche Untersuchungen vor.

Was die ältesten Untersuchungen betrifft, die von *Lorinzer-Kleitzinsky*, *Müller-Fabian*, *Kirchgasser*, *K. A. H. Mörner*, *Jolin*, *Welander*, *Kjellberg*, *Reichard* u. a. veröffentlicht sind, so sind sie von geringerem Interesse, da das Arsen nur qualitativ nachgewiesen, seine Menge aber nicht bestimmt wurde. Nur eine Analyse von *Clarke*[4]) gibt einen bestimmten Wert an. Eine Frau wohnte in einem Raume mit stark arsenhaltigen Tapeten und bot die gewöhnlichen Symptome von Vergiftung dar. 1700 ccm enthielten nicht weniger als 16,8 mg Arsen. Diese Quantität scheint zu groß, um richtig zu sein, namentlich wenn man bedenkt, daß nur *ein Teil* des Arsens durch den Harn ausgeschieden wird.

Später sind umfassende Untersuchungen über Arsenausscheidung durch den Harn bei chronischer Arsenvergiftung von den Amerikanern *Hills* und *Sanger* ausgeführt worden. Der letztere[5]) teilt genaue Krankengeschichten über 20 Patienten mit und liefert außerdem quantitative Angaben über die Arsenmengen in den Tapeten, die die Ursache der Vergiftung waren (diese Mengen waren im allgemeinen sehr groß); ferner gibt er die Analysen über die Arsenmenge im Harne seiner Patienten. Diese Untersuchungen müßten daher von großem Wert für die Frage der Arsenausscheidung bei chronischer Vergiftung gewesen sein. Höchst auffallend ist, wie geringe Arsenmengen ausgeschieden wurden (0,01 bis 0,068). Indessen ist *Sanger* in einer späteren Publikation von diesen seinen Harnanalysen abgerückt, die er jetzt als fehlerhaft betrachtet. Ein großer Teil des Arsens ging bei der Verbrennung des Harns verloren. Infolgedessen verlieren auch *Hills'*[6]) Untersuchungen ihren Wert, denn *Hills* arbeitete

[1]) *Thomson*, Chem. Rapports 1907, S. 449, zitiert nach *Bloemendal*. Original mir nicht zugänglich.

[2]) *Harkins*, ebendaselbst 1907, S. 448.

[3]) *Baugh*, Proc. Manch. literary and phil. soc. 1904/05.

[4]) *Clarke*, British med. journ. 1873.

[5]) *Sanger*, Proc. americ. of arts and sciences 29, 1894.

[6]) *Hills*, Boston med. journ. 1894.

nach *Sangers* Methode. *Hills'* Untersuchungen umfassen 260 Analysen auf 180 Fälle von chronischer Arsenvergiftung. Nur bei acht Fällen erreichte die Arsenmenge 0,1 mg, sonst schwankten die Werte zwischen 0,003 und 0,1 mg. Nachdem die Tapeten entfernt waren, wurde der Harn nach 51 bis 91 Tagen arsenfrei.

Forscht man nach dem Grunde für die widersprechenden Angaben, die sich in der Literatur über den Arsengehalt des Harns finden, so findet man, wie gesagt, daß er meist in der Unvollkommenheit der angewandten Methode liegt. Da man es hier mit kleinen Arsenmengen zu tun hat, die sich teilweise in organischer Form finden, gemischt mit einer großen Menge organischer und anorganischer Stoffe, so steht man einer schwierigen analytischen Aufgabe gegenüber, die ein gründliches Studium erfordert, wenn sie zuverlässige Resultate liefern soll. Eine derartige eingehende Bearbeitung des Problems fehlt indessen fast vollkommen. Im allgemeinen — bei älteren Autoren immer — hat man sich damit begnügt, eine Probe nach *Marsh* anzustellen, entweder mit dem Harn direkt nach einer *Schneider*destillation oder auch nach Verbrennung und Veraschung der organischen Bestandteile des Harns. Das quantitative Verhältnis wurde dann durch Vergleich mit anderen Arsenspiegeln von bekannter Größe bestimmt. Dieses Verfahren ist beim Harn ganz mangelhaft, namentlich wenn man nicht näher untersucht, ob der Spiegel auch wirklich aus Arsen besteht, was sehr selten der Fall ist. Kontrolluntersuchungen von Harn, dem bekannte Arsenmengen in derselben Quantität, wie man sie im normalen Harn zu finden erwartet, zugesetzt waren, sind sehr oberflächlich ausgeführt. So findet man gelegentlich die Angabe, daß der Harn keinen Spiegel ergab, daß ein solcher aber nach Zusatz von „etwas Arsenik“ oder von „einigen Körnchen“ Arsenik zum Vorschein kam. Mögliche Fehlerquellen bei der Arsenbestimmung sind überhaupt nicht in Betracht gezogen und können natürlich bei einem solchen Verfahren nicht näher untersucht worden sein. Organische Stoffe können bei der *Schneider*destillation übergehen und dann Veranlassung zum Auftreten eines falschen Arsenspiegels geben. Ob mehr oder weniger derartige Möglichkeiten in Wirklichkeit eintreffen, ist ohne eingehende Untersuchung schwer zu entscheiden, und solche liegen nicht vor.

Ein Teil der angeführten Fehlerquellen läßt sich trotzdem leicht überwinden, wenn die organischen Stoffe des Harns von vornherein durch Oxydation zerstört werden. Aber auch in diesem Falle ist es erforderlich, daß Kontrollversuche mit Harn, der mit bekannten Arsenmengen versetzt ist, in genügender Zahl vorliegen, unter anderem deshalb, weil die Oxydation unvollständig sein kann. Solche Untersuchungen sind jedoch bisher nur in geringer Zahl ausgeführt worden. Und doch sollten die Bemerkungen, die gegen *Gautiers* Methode an-

geführt worden sind, dazu auffordern. Es muß daher vor allen Dingen durch genaue Untersuchung festgestellt werden, ob bei dem angewandten Verfahren *alle* organische Substanz konstant zerstört wird, ohne daß ein Verlust an Arsen eintritt, sowie daß eventuell vorhandene organische Arsenverbindungen quantitativ in anorganisches Arsen übergeführt werden. Andererseits kann sich bei unvorsichtiger Verbrennung Arsen verflüchtigen und verlorengehen. Dies war z. B. bei *Sangers* Methode der Fall (s. oben).

Eigene Untersuchungen über das Vorkommen von Arsen im normalen Harn.

Wie früher erwähnt worden ist[1]), habe ich meine für Gebrauchsgegenstände ausgearbeitete Methodik dahin erweitert, daß sie auch die Arsenbestimmung im Harn umfaßt. Um sie dafür einzurichten, war es notwendig, kleine Modifikationen bei der Verbrennung mit Salpetersäure—Schwefelsäure, die sich im Verlauf der Arbeit als nötig oder vorteilhaft erwiesen, einzuführen.

Eine vollständige Zerstörung der organischen Bestandteile des Harns war leicht zu erreichen. Bekanntlich erzielt man sie bei der *Kjeldahl*methode durch Verbrennung mit Schwefelsäure allein. Bei meiner kombinierten Verbrennung mit Salpetersäure und Schwefelsäure wurde alle organische Substanz, die nach Einwirkung der Salpetersäure möglicherweise noch übrig war, sicher schließlich von der Schwefelsäure verbrannt. Um die letzten Spuren der Salpetersäure zu verjagen, wird die Verbrennung damit abgeschlossen, daß man den Rest, der jetzt aus der ursprünglich zugesetzten Schwefelsäure besteht, 15 Minuten lang kocht. Das andere Problem, jeder Möglichkeit eines Arsenverlustes während der Verbrennung vorzubeugen, erforderte dagegen besondere Vorsichtsmaßregeln. Bekanntlich ist der Harn reich an Chloriden, aus denen bei der Eindampfung mit Schwefelsäure (und Salpetersäure) Salzsäure entweicht. Die vorhandenen organischen Stoffe könnten beim Eindampfen mit Schwefelsäure reduzierend auf das Arsen einwirken, sofern sich dies als Arsensäure vorfindet, wobei Arsentrichlorid entweichen kann. Um das mit Sicherheit zu verhindern, wurde der Harn immer *nur* mit Salpetersäure eingedampft, die in solcher Menge zugesetzt wurde, daß sie jede denkbar vorkommende Chlormenge überstieg. Während des Eindampfens wird dann alles Chlor ausgetrieben. Außerdem muß immer eine genügende Salpetersäuremenge übrigbleiben, um jede Reduktion von Arsen zu verhindern. Dies ergab sich teils daraus, daß bei weiterem Zutropfen von Salpetersäure keine Stickstoffdioxydentwicklung stattfand, teils daraus, daß wir bei Versuchen mit Harn, dem bekannte Arsenmengen zugesetzt

[1]) *Bang*, diese Zeitschr. **161**, 199. 1925.

waren, immer richtige Werte bei der Bestimmung erhielten (s. unten). Um dies zu erreichen, wurde die verwendete Harnmenge vor Beginn der Untersuchung bis zu 20 Proz. mit rauchender Salpetersäure versetzt. Das Gemisch wurde dann portionsweise in den *Kjeldahl*kolben gebracht und über freier Flamme auf 10 bis 20 ccm eingekocht. Die verwendete Harnmenge betrug gewöhnlich $^1/_{10}$ der Tagesmenge. Bei einzelnen Versuchen wurden auch größere Harnmengen verwendet, nämlich da, wo man ein unbedeutendes Arsenvorkommen vermutete. Nach der Eindampfung, wenn also alles Chlor und ein großer Teil der organischen Stoffe entfernt waren, wurde die vorgeschriebene Schwefelsäuremenge (22 ccm) zugesetzt, ohne Erwärmung über der Flamme. Jetzt trat in der Regel eine starke Stickstoffdioxydentwicklung als Zeichen einer intensiven Oxydation ein. Unter vorsichtiger Erwärmung wurde der Flüssigkeit mit einem Tropftrichter wie gewöhnlich neue Salpetersäure zugeführt, bis die Verbrennung offenbar beendet war. Während die Flüssigkeit nach dem Schwefelsäurezusatz zunächst eine dunkelbraune Färbung annahm, hellte sie sich bei dem nachfolgenden Salpetersäurezusatz zu einem hellen Gelb auf und wurde schließlich ganz farblos. Jetzt hörte die Zufuhr von Salpetersäure auf, und das Kochen wurde mit größerer Flamme fortgesetzt. In der Regel trat wieder Dunkelfärbung ein, die bei Zusatz von einigen Tropfen Salpetersäure rasch verschwand. Im allgemeinen muß der Salpetersäurezusatz öfters wiederholt werden, bis schließlich nach kürzerer oder längerer Zeit (was von der Menge der organischen Stoffe abhängt) die Flüssigkeit beim weiteren Kochen mit Schwefelsäure allein die Farbe nicht mehr ändert. Damit war die Verbrennung beendet, und es folgte das übliche, in der vorhergehenden Abhandlung erörterte Verfahren.

In Tabelle I sind die Versuchsresultate zusammengestellt, die mit der Methode erhalten wurden. Die Versuche wurden in der Weise angestellt, daß in einer Probe die im Harn präformiert vorhandene Arsenmenge bestimmt wurde. Zu einer anderen Portion des Harns wurde darauf eine genau bestimmte Arsenmenge zugesetzt und eine neue Bestimmung vorgenommen.

Die angeführten Analysen zeigen, daß sich in sämtlichen Versuchen die quantitative Arsenmenge wiederfindet, indem die Versuchsfehler, bis auf eine einzige Analyse, innerhalb der Fehlergrenzen der Methode liegen (+ 0,05 mg As). Das beweist, daß das Arsen, sofern es im Harn entweder präformiert in anorganischer Form vorkommt oder durch Verbrennung in diese übergeht, vermittelst dieser Methode exakt bestimmt werden kann. Dagegen können die angeführten Untersuchungen nicht bestimmt entscheiden, ob bei diesem Verfahren die normalen präformierten Arsenverbindungen tatsächlich auch vollständig in anorganische Form übergeführt werden. Es ist zum mindesten denkbar,

Tabelle I.

Versuchsnummer	Name	Verwendete Harnmenge	Zugesetztes As	Gefundenes As	Berechnetes As (präformiert und zugesetzt)	Differenz
		ccm	mg	mg	mg	
1	A. J.	200	—	0,01	—	—
1	"	100	0,375	0,38	0,39	— 0,00
2	O. L.	200	—	0,01	—	—
2	"	100	0,113	0,11	0,12	— 0,01
2	"	200	0,150	0,16	0,16	± 0
2	"	200	0,263	0,27	0,27	— 0
2	"	200	0,375	0,37	0,39	— 0,02
3	L. O.	200	—	0,06	—	—
3	"	200	0,375	0,41	0,43	— 0,02
4	"	200	—	0,04	—	—
4	"	200	0,375	0,47	0,42	+ 0,05
5	O. P.	200	—	0,00	—	—
5	"	200	0,075	0,07	0,08	— 0,01
5	"	200	0,188	0,19	0,20	— 0,01
6	O. H.	400	—	0,01	—	—
6	"	200	0,082	0,08	0,09	— 0,01
7	"	200	—	—	—	—
7	"	200	0,037	0,04	0,04	—
7	"	200	0,075	0,08	0,08	± 0
7	"	200	0,113	0,11	0,11	— 0,06
7	"	200	0,188	0,20	0,19	+ 0,01
7	"	200	0,263	0,27	0,26	+ 0,01
7	"	200	0,375	0,37	0,38	— 0,01
8	A. P.	150	—	0,01	—	—
8	"	200	0,038	0,04	0,06	— 0,02
8	"	200	0,075	0,08	0,09	— 0,01

daß das, was bei den Versuchen ohne Arsenzusatz als Arsen bestimmt ist, in Wirklichkeit etwas anderes ist, was bei der Titrierung Jod verbraucht und darum als Arsen bestimmt wird. Daß diese Möglichkeit in Wirklichkeit nicht eintrifft, sondern daß es Arsen ist und nichts anderes, was vorliegt, wird durch die folgende Versuchsreihe bewiesen. In Serie I wurde der Arsengehalt der Harnprobe wie gewöhnlich bestimmt. In der zweiten Kontrollserie wurde er dagegen nach *Rambergs* Mikromethode[1]) bestimmt, bei der das Arsen erst als Arsenspiegel abgesetzt wird, der dann aufgelöst und titrimetrisch bestimmt wird (Serie II).

Die Übereinstimmung ist, wie man sieht, recht gut, besonders wenn man bedenkt, daß die Werte in Serie II in gewissen Fällen (10 bis 11) mit großen Faktoren multipliziert werden. Damit ist bewiesen, daß alles organische Arsen in das Destillat übergeht und dort bestimmt wird, und ferner, daß *nur* Arsen und nichts anderes, was auf die Versuchsresultate einwirken könnte, mitkommt. Einen exakten Beweis

[1]) Schwedisch publiziert.

Tabelle II.

Versuchsnummer	Serie I	Serie II	Differenz
7	0,004	0,020	0,016
8	0,02	0,02	0
9	0,03	0,06	0,03
10	0,79	{0,72 {0,72	0,06 0,05
11	0,36	0,33	0,03
12	0	0	0
13	{0,04 {0,04	0,02	0,02
14	0,01	0,01	0
15	0	0	0
16	0,13	0,13	0

zu liefern, daß im Harn möglicherweise vorhandene organische Arsenverbindungen bei der Verbrennung mit Schwefelsäure—Salpetersäure wirklich in ihrer Gesamtheit in anorganisches Arsen übergehen, und daß sich kein organisches Arsen während der Verbrennung verflüchtigt, sondern zu anorganischem oxydiert wird, ist auf direktem Wege nicht möglich. Erstens ist es überhaupt nicht ganz sicher, ob sich solche organische Arsenverbindungen im Harn finden, und zweitens, wenn sie vorhanden sind, so sind sie doch nie aus Harn dargestellt worden, so daß ihre chemische Natur vollkommen unbekannt ist. Um diese Frage mit größtmöglicher Wahrscheinlichkeit zu beantworten, wurden Arsenverbindungen von bekannter Konstitution, und zwar solche, deren Verbrennung für am schwierigsten gilt, nach dieser Methode untersucht. Diese Verbindungen waren *Kakodylsäure, Atoxyl* und Salvarsan[1]). Sie wurden teils für sich in wässeriger Lösung (was an sich völlig genügend sein dürfte), teils nach Zusatz von Harn von bekanntem Arsengehalt untersucht.

Die *Kakodylsäure* ergab folgendes Resultat: 1. Zu 200 ccm eines arsenfreien Harns wurde Kakodylsäure zugesetzt, berechnet als Arsenmetall 0,07, 0,188 und 0,263 mg. Wiedergefunden Arsen im Harn 0,070, 0,191 und 0,268 mg. 2. Ein anderer Harn enthielt auf 200 ccm 0,136 mg As. Zu den folgenden Proben von je 200 ccm wurden 0,038 und 0,113 mg As als Kakodylsäure zugesetzt. Wiedergefunden 0,167 und 0,258 mg. Aus den angeführten Analysen geht hervor, daß die Kakodylsäure mit demselben Grade von Genauigkeit bestimmt wird wie anorganisches Arsen.

[1]) Das Verhalten des Harns nach Salvarsaninjektionen liegt etwas weit ab von der Aufgabe, die wir zu lösen haben, und soll hier nicht näher behandelt werden.

Die Versuche mit *Atoxyl*, das in Wasser gelöst angewendet wurde, ergaben das Resultat, daß eine 0,247 mg As entsprechende Menge bei drei Untersuchungen 0,230, 0,210 und 0,200 mg As lieferte.

Von *Salvarsan* wurden Lösungen in Wasser mit Zusatz von etwas Natronlauge hergestellt. Die Präparate, die in zugeschmolzenen Röhren aus der Apotheke kamen, ergaben etwas zu niedrige Resultate: 0,33 mg As gegen berechnete 0,38 mg und 0,16 mg As gegen berechnete 0,19 mg. Nachdem das Präparat, das sehr hygroskopisch ist, im Exsikkator bis zu konstantem Gewicht getrocknet war, wurden die Werte ganz exakt bestimmt. 1. 0,37 mg Salvarsan—As zugesetzt und 0,36 mg wiedergefunden. 2. Zu 200 ccm arsenfreien Harns zugesetzt 0,38 mg Salvarsan—As. Wiedergefunden 0,37 mg As. Man ist nach den angeführten Untersuchungen zu dem Schluß berechtigt, daß, sofern Arsen im Harn in organischer Verbindung vorkommt, es aller Wahrscheinlichkeit nach bei meiner Methode vollständig zu anorganischem Arsen verbrannt und als solches bestimmt wird.

Folglich ist man berechtigt, das oben beschriebene Verfahren zur Bestimmung des Arsens im Harn als eine Methode zu bezeichnen, die zufriedenstellende Werte für das im Harn vorkommende Arsen liefert.

Vermittelst dieser Methode war es daher möglich, die Arsenmenge festzustellen, die unter physiologischen Verhältnissen ohne Arsenzufuhr im Harn vorkommt; und da die Methode relativ einfach ist, konnten Untersuchungen darüber in großem Umfang ausgeführt werden, was für die Lösung des Problems unbedingt notwendig ist, wie aus dem Folgenden hervorgeht. Die Resultate dieser Analysen sind in der Tabelle III zusammengestellt. Die Versuchsindividuen waren in der Hauptsache Kranke aus der medizinischen Klinik in Lund, die dank dem Entgegenkommen von Prof. *Petrén* zur Vertügung gestellt wurden. Die 24-Stunden-Menge des Harns wurde notiert und davon eine zur Analyse geeignete Menge entnommen. *Durchgehends* (außer wo ein Teil verlorenging, so daß die Harnmenge nicht ausreichte) *wurden Doppelanalysen ausgeführt.* Fand sich einmal zwischen den Doppelanalysen eine Differenz, die 0,005 mg As überstieg, so wurde eine dritte Analyse angestellt, in einem Falle sogar eine vierte. Die angeführten Werte sind Mittelwerte aus den Analysen, berechnet auf die 24stündige Harnmenge. Die Versuchsindividuen Nr. 17 bis 40 standen auf der gewöhnlichen Krankenhausdiät. Nr. 41 bis 48 waren Patienten, die auf Ulcusdiät standen [Rahmgemisch (Mischung von Milch und Sahne), Milchbrei, Zwieback usw., s. unten]. Endlich waren Nr. 48 bis 54 Harne von Patienten, die im Verdacht standen, an chronischer Arsenvergiftung von ihren Wohnstätten her (arsenhaltiges Zinkweiß) zu leiden, deren Harn aber, wie ein Vergleich mit den übrigen

Harnanalysen zeigt, vollständig normal war. Sie sind daher ohne Bedenken aufgenommen.

Tabelle III.

Nr.	Name	Tagesmenge Harn ccm	As pro Tag mg	Mg As/Liter
17	S. S.	800	0,08	0,10
18	E. J.	2600	0,04	0,02
19	R.V.	1200	0,52	0,43
20	O. J.	1450	0,11	0,08
21	H. M.	950	0,06	0,01
22	A. J.	900	0,05	0,06
23	K. A.	1400	0,03	0,02
24	N. N.	700	0,10	0,15
25	M. M.	1600	0,03	0,02
26	A. L.	1600	0,08	0,05
27	O. P.	790	0,16	0,21
28	O. H.	1500	0,04	0,03
29	L. P.	720	0,12	0,16
30	A. P.	800	0,07	0,09
31	J. I.	1800	0,08	0,04
32	N. E.	1400	0,04	0,03
33	L.	1800	0,23	0,13
34	N. B.	1800	0,01	0,01
35	A. J.	2100	0,11	0,05
36	M.	1300	0	0
37	E. J.	1075	0,05	0,05
38	A. N.	450	0	0
39	R. S.	1100	0,14	0,13
40	O. N.	700	0,49	0,69
41	E. O.	330	0	0
42	U. U.	980	0,09	0,09
43	U. U.	940	0,14	0,16
44	H. P.	1200	0,08	0,01
45	A. L.	1000	0,05	0,06
46	A. F.	1000	0,03	0,03
47	P. A.	1000	0,16	0,16
48	C. J.	1300	0	0
49	O. P.	1200	0	0
50	Q. Q.	650	0,08	0,11
51	O. J.	2000	0,04	0,11
52	J.	2000	0	0
53	E. K.	2500	0,14	0,06
54	S. S.	2500	0,12	0,05

Aus den angeführten Werten geht hervor, daß Arsen tatsächlich sehr allgemein im normalen Harn vorkommt, nämlich in 33 Fällen

von 39 oder in 85 Proz., aber daß die Arsenmenge außerordentlich variabel ist, jedoch so, daß sowohl relativ hohe Arsenwerte sowie sehr kleine oder kein Arsen die Ausnahme bilden. Bei etwa der Hälfte der Proben lagen die Arsenwerte zwischen 0,01 bis 0,06 mg pro Liter (42,7 Proz.).

Eine andere wichtige Tatsache geht weiterhin aus unseren Versuchen hervor, daß nämlich der Harn normaler Individuen relativ bedeutende Arsenmengen enthalten kann. Es ist klar, daß dieser Befund in hohem Grade die Bedeutung bis dahin vorliegender Arsenbestimmungen im Harn zur Beurteilung der Frage der chronischen Arsenvergiftung reduzieren muß.

Der Umstand, daß der Harn verschiedener Individuen einen so wechselnden Arsengehalt aufweist, führt naturgemäß zu der Frage, worauf diese großen Variationen beruhen können. Um dieser prinzipiell wichtigen Frage näherzukommen, war es zunächst notwendig, die physiologischen Variationen bei einem und demselben Individuum im Verlauf einer etwas längeren Zeitperiode zu untersuchen. Solche Untersuchungen sind in der Tabelle IV zusammengestellt.

Tabelle IV.

Nr.	Name	Datum	Tagesmenge Harn ccm	As pro Tag mg
		1915		
1	A. J.	4. III.	2100	0,11
		5. III.	1400	0,05
		6. III.	1000	0
		7. III.	1200	0,04
		8. III.	2000	0,17
2	E. O.[1]	17. III.	330	0
		18. III.	650	0,02
		20. III.	600	0
		21. III.	430	0,06
		24. III.	280	0,03
		25. III.	330	0
3	H. B.	21. II.	1800	0,23
		22. II.	1250	0,19
		23. II.	1300	0,10
		24. II.	1400	0,03
		25. II.	2200	0,11
		26. II.	2800	0,13
4	S. S.	20. X.	800	0,09
		21. X.	1000	0,01
		24. X.	600	0,09
		25. X.	500	0,04

[1] Ulcus ventr.

Aus der Tabelle geht hervor, daß bei einem und demselben Individuum von einem Tage zum anderen sich recht beträchtliche Schwan-

kungen im Arsengehalt des Harns nachweisen lassen. In der ersten Serie schwankt er zwischen 0 und 0,18 mg, in der zweiten zwischen 0 und 0,06 mg, in der dritten zwischen 0,03 und 0,23 mg und in der vierten zwischen 0,01 und 0,09 mg. Im Laufe weniger Tage (4 bis 6) ist also die Arsenmenge bis fast auf das Zehnfache oder mehr in allen Serien verändert. Die absoluten Werte dagegen, ebenso wie die Durchschnittswerte (0,07, 0,03 und 0,13 mg), liegen sämtlich innerhalb der Variationsbreite, die man findet, wenn man den Harn verschiedener Personen vergleicht. Auch hieraus geht überzeugend hervor, wie wenig Gewicht man auf die Angaben über normalen und übernormalen Arsengehalt im Harn legen darf.

Der physiologische Arsengehalt des Harns und damit zusammenhängende Fragen.

II. Mitteilung: Die Ursachen für das Vorkommen von Arsen im normalen Harn.

Von

Ivar Bang †.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 10. September 1925.)

Mit 9 Abbildungen im Text.

1. Untersuchung über den Arsengehalt der Nahrungsmittel.

Wendet man sich dem Problem zu, was die Ursache dieser Variationen des physiologischen Arsengehaltes im Harn ist, so fällt es natürlich mit der Frage zusammen, woher kommt unter physiologischen Verhältnissen überhaupt das Arsen im Harn. In bezug auf dieses Problem liegen keine exakten Untersuchungen vor, dafür aber um so mehr Hypothesen.

Croner und *Seligmann*[1], die fanden, daß der Harn normalerweise Spuren von Arsen enthielt und *bei verschiedenen Personen in wechselnder Menge*, meinten, daß die Ursache hierfür höchstwahrscheinlich in der *Nahrung* zu suchen sei. Irgend eine Analyse zur Stütze dieser Auffassung wird jedoch nicht mitgeteilt. *Kossa* nimmt ebenfalls an, daß die Nahrung die Ursache sei, da Arsen in fast allen Nahrungsmitteln nachgewiesen werden kann. Als eine andere Ursache nennt *Kossa* „Gegenstände der Umgebung". Nach *Richter* ist die Ursache dafür, daß seine Harnuntersuchungen in Deutschland ein negatives Ergebnis hatten, während die Amerikaner *Putnam* und *Hills* den Harn arsenhaltig fanden, auf die strengeren Giftvorschriften in Deutschland zurückzuführen. Gegenstände der Umgebung sollen nach dieser Anschauung die Hauptursache sein. *Hills* dagegen meint, daß das Arsen des Harns aus der Luft stamme. Gas und Kohle enthalten Arsen, das aus der Luft (in Gasform oder als Staub) aufgenommen, durch die Lungen dem Blut zugeführt werde und von da in den Harn gelange. *Thomsons* Untersuchungen sprechen stark für die Richtigkeit dieser Ansicht. In einem von *Blomquists* Vergiftungsfällen war das Trinkwasser arsenhaltig (1 mg As auf 5 Liter Wasser). Der Harn

[1] *Croner* und *Seligmann*, Deutsch. med. Wochenschr. 1907, S. 995.

enthielt „beachtenswerte Mengen Arsen". Nach *Blomquist* ist indessen die Quelle des normalen Arsengehaltes des Harns im *Brot* zu suchen. Die Samen der Getreidearten nehmen aus der Erde das überall vorkommende Arsen auf, „das ja eins der verbreitetsten Elemente ist". Eine nicht unwesentliche Quelle für das Vorkommen von Arsen in der Ackererde ist ferner nach *Blomquist* die arsenige Säure, die in Form von Medizin von unserem Pferdebestand verbraucht wird (!). Dieses Arsen geht in den Dünger über. Die künstlichen Düngemittel sind auch arsenhaltig und tragen dazu bei, die Ackererde arsenhaltig zu machen. Nur sehr selten trifft man auf einen absolut arsenfreien Harn, was in dem oben Gesagten seine Erklärung finden kann. Welchen Wert eine solche Erklärung in Wirklichkeit besitzt, geht aus den unten wiedergegebenen Versuchsserien hervor.

Aus dem, was angeführt worden ist, geht hervor, daß man sich folgende Möglichkeiten als Erklärung für das Auftreten von Arsen im Harn vorgestellt hat: 1. Es stammt aus den Nahrungsmitteln; 2. es stammt aus dem Trinkwasser; 3. es stammt aus der Luft, entweder durch Inhalation von gasförmigem Arsen oder in Form von arsenhaltigem Staub. Sucht man zu diesen Möglichkeiten Stellung zu nehmen, so scheint die Auffassung a priori die wahrscheinlichste zu sein, daß die Quelle für den Arsengehalt des Harns in den Nahrungsmitteln zu suchen ist. Es entsteht daher die Frage, ob unsere Nahrungsmittel Arsen enthalten und in welcher Menge.

Animalische Nahrungsmittel. Die ältesten Untersuchungen hierüber stammen aus dem Jahre 1839, wo *Orfila* fand, daß der Organismus des Menschen normalerweise Arsen enthält. *Flandin* und *Danger* wiesen indessen kurze Zeit später (1840) nach, daß *Orfilas* positive Reaktionen mit *Marsh* falsch waren. Die französische Akademie der Wissenschaften setzte nun 1840 eine Kommission ein, bestehend aus *Thenard*, *Dumas*, *Brussingault* und *Regnault*, um die Frage zu entscheiden. Die Kommission kam zu dem Ergebnis, daß sich im Tierkörper kein Arsen fände. Erst 50 Jahre später (1899) nahm *Gautier*[1]) das Problem zu neuer Untersuchung auf. Er wies damals Arsen als einen normalen Bestandteil der Thyreoidea nach, konnte aber *kein* Arsen in anderen Organen, wie Blut, Leber, Niere oder Muskeln finden. Harn und Fäzes waren ebenfalls arsenfrei. *Gautiers* Resultate wurden von mehreren Forschern, wie *Lepierre*, *Paget*, *Imbert* und *Garrigou*[2]) bestätigt. Weitere Untersuchungen von *Gautier* (1900) ergaben das Resultat, daß alle tierischen Organe, die vom Ektoderm stammen, wie Thyreoidea, Mamma, Thymus, Haar und Haut, Federn und dergleichen, Arsen enthielten. Leber, Milz, Nieren, Muskeln, Sperma, Hypophyse, Pankreas, Darm- und Magenschleimhaut sowie Blut waren dagegen arsenfrei. Das Hirn enthielt bisweilen Arsen, bisweilen nicht. Unterdessen kam *Hödlmoser*[3]) zu einem ganz entgegengesetzten Resultat: Die Schilddrüse wurde ganz arsenfrei ge-

[1]) *Gautiers* zahlreiche Untersuchungen sind veröffentlicht in C. r. de l'acad. des sciences **129**, 929, 1899; **130**, 284, 1900; **131**, **164**, **1900**; **134**, 1394, 1901; **135**, 812, 833, 1115, 1902; **137**, 158, 232, 295, 374, 1903; **139**. 101, 1904. Bulletin de la soc. chimique de Paris (3) **28**, 4, 302, 1900; **27**, 135, 833, 843, 1030, 1902; **29**, 639, 913, 1903.

[2]) C. r. de l'acad. des sciences **135**, 1113, 1903.

[3]) *Hödlmoser*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **33**, 329, 1901.

funden. Kurze Zeit darauf veröffentlichte *Bertrand* [1902] [1]) seine ausführlichen Untersuchungen über dieses Problem. Seine Resultate waren folgende: 20 g Harn enthielten 0,004 mg As, 50 g Schilddrüse 0,0025 mg, 40 g Haut 0,0035 mg, 34,6 g Federn 0,0025 mg, 20 g Schale 0,0035 mg, 17,19 g Muskeln 0,001 mg, Tintenfisch 40,89 g 0,002 mg, Muscheln 31,5 g 0,002 mg, Seeigel und Seestern 36,7 g 0,005 mg. Ferner wurden untersucht Vögel, Fische, Schildkröten, Algen und Schwämme. Überall wurde Arsen (in ähnlichen Mengen) gefunden. *Bertrand* zog daraus den Schluß, daß Arsen normalerweise in allem Protoplasma vorkommt und ein fundamentaler Bestandteil desselben ist. Dagegen opponiert *Gautier* und weist auf seine zahlreichen negativen Resultate in bezug auf mehrere Organe hin. *Cerny* [2]) arbeitete mit *Gautiers* Methode. Seine Untersuchungen bestätigten die von *Gautier* insofern, als er kein Arsen in den Organen antraf, die *Gautier* für arsenfrei ansah, aber er konnte auch in der Schilddrüse kein Arsen finden. Zu dem gleichen Ergebnis kam *Ziemke* [3]), der mit mehreren verschiedenen Methoden arbeitete, darunter der als außerordentlich empfindlich betrachteten *Gosio*-Methode (Schimmelpilze, die auf arsenhaltigem Substrat Knoblauchgeruch entwickeln). *Ziemke* konnte ebensowenig Arsen in animalen Organen nachweisen. *Hödlmosers* und *Ziemkes* Kontrolluntersuchungen der Methoden früherer Autoren, die übrigens sämtlich die *Marsh*-Probe anwendeten, um das Arsen zu identifizieren, zeigten, daß man so kleine Mengen wie $^1/_{1000}$ bis $^1/_{2000}$ mg As, die dem betreffenden Organ zugesetzt wurden, wiederfinden konnte. *Hödlmoser* und *Ziemke* sind der Ansicht, daß die positiven Arsenbefunde von unreinen Reagenzien, die selbst Arsen enthielten, herrührten.

Im Jahre 1903 veröffentlichte *Gautier* wieder zahlreiche Analysen über das Vorkommen von Arsen in animalen Organen und schreibt auch eine Gegenkritik gegen die Forscher, die meinen, daß das Arsen von Verunreinigungen in den Reagenzien herrührt. Er findet jetzt Arsen als normalen Bestandteil in einer Menge Organe: 100 g Rindfleisch (frisch) 0,0006 bis 0,0008 mg, 100 g Kalbfleisch 0,00012 bis 0,001 mg, 200 g Testikel 0,0010 bis 0,0012 mg, 110 g Hühnerei 0,0003 mg, 1 Liter Milch 0,0007 mg. *Bertrands* weitere Untersuchungen bestätigten das allgemeine Vorkommen von Arsenspuren im Organismus. *Garrigou* [4]) und *Segale* [5]) kamen zu dem gleichen Resultat. Auf der anderen Seite fand *Wieser* [6]), daß Arsen *keinen* konstanten Zellbestandteil bildet, sondern nur eine zufällige Beimengung von außen aufgenommenen Arsens. *Kunkel* [7]) verhält sich ebenfalls ablehnend. Besonders hebt er hervor, daß die biologische Methode zum Nachweis von Arsen wertlos ist, da alle Penicilliumkulturen einen ausgeprägten Geruch haben, der den Wert dieser Methode zweifelhaft macht. 1907 wies *Schaefer* [8]) Arsen in den meisten Organen nach. Die gefundenen

[1]) *Bertrand*, C. r. de l'acad. des sciences **131**, 809, 1900; **134**, 1434, 1902; **135**, 809, 1902; **136**, 1083, 1903; **137**, 266, 1903. Bulletin de la soc. chimique de Paris **27**, 847, 851, 1233, 1902; **29**, 790, 920, 1903.

[2]) *Cerny*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **34**, 408, 1902.

[3]) *Ziemke*, Vierteljahresber. f. ger. Med. **28**, 51, 1902.

[4]) *Garrigou*, C. r. de l'acad. des sciences **135**, 1113, 1903.

[5]) *Segale*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **42**, 175, 1904.

[6]) *Wieser*, Dissertation, Würzburg 1904.

[7]) *Kunkel*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **44**, 511, 1905.

[8]) *Schaefer*, Ann. chem. anal. appl. **12**, 52, 1907.

Werte bewegten sich um einige Tausendstel Milligramme. 1908 kam *Bloemendal*[1]) nach einer umfassenden Untersuchung zu dem Resultat, daß Arsen kein normaler Organbestandteil sei. *Van Itallie* und *van Eek*[2]) kamen 1913 zu dem gleichen Resultat, insofern als die Untersuchung von 24 Menschenlebern nur spurweise und als Ausnahme das Vorhandensein von Arsen ergab. Endlich findet sich aus dem Jahre 1915 eine Untersuchung von *Lydia Bulyghin*[3]), worin die Arsenmenge in 50 g Kalbsleber mit nicht weniger als 3,8 mg As_2O_3 und in 50 g Menschenleber mit 3 mg As_2O_3 bestimmt wird, also etwa 1000mal mehr, als frühere Forscher gefunden haben, soweit sie überhaupt Arsen fanden.

Vergleicht man nun die angeführten Resultate der Untersuchungen der verschiedenen Autoren, so ist das Endergebnis nicht ermunternd. Die Angaben sind derartig widersprechend, daß man unmöglich bestimmte Schlüsse daraus ziehen kann. So viel geht jedoch aus den *meisten* Analysen hervor, daß dort, wo es gelungen ist, Arsen nachzuweisen, dieses in außerordentlich geringen Spuren vorkommt, die in keiner Weise die Mengen erklären können, die bei unseren Untersuchungen im Harn gefunden wurden. Wenn man indessen die großen Schwierigkeiten bedenkt, die mit der Bestimmung kleiner Arsenmengen in Organen verknüpft sind, so liegt die Vermutung nahe, daß die angegebenen Werte nicht den wirklichen entsprechen, sondern daß möglicherweise der größte Teil des Arsens bei der langwierigen Verbrennung des Organs verloren gegangen ist. Andererseits sind zur Verbrennung bedeutende Quantitäten von Reagenzien gebraucht worden, die möglicherweise Spuren von Arsen, entsprechend den nachgewiesenen Mengen, enthalten haben können — eine Vermutung, die, wie gesagt, seinerzeit von *Gautier* gegen *Bertrand* und umgekehrt eingewendet wurde. Es ist also sehr wichtig, diese Untersuchungen mit einer verbesserten Methode wieder aufzunehmen.

Die oben referierten Untersuchungen umfassen außer Organen warmblütiger Tiere zum Teil auch Analysen über das Vorkommen von Arsen in *Fischen* und *anderen Kaltblütern*. Von Interesse sind hier eigentlich nur die Analysen von Fischen. Im Jahre 1903 veröffentlichte *Gautier* zwei Abhandlungen über diese Frage. In der ersten teilt er mit, daß Fischrogen, Fischmilch und Fischfleisch arsenfrei seien. In der zweiten Publikation veröffentlicht er Analysen über Makrele (100 g 0,0025 mg As) und Knurrhahn (trigla pini) (100 g 0,006 bis 0,067 mg), ein bisweilen relativ sehr hoher Arsengehalt im Vergleich zu *Gautiers* Werten für Organe warmblütiger Tiere[4]). Übrigens gibt *Gautier* an, daß der Arsengehalt des Fischfleisches sehr wechselnd sei. Das Arsen des Fisches stammt nach *Gautier* aus seiner Nahrung, indem Algen und Plankton arsenhaltig gefunden wurden. Dasselbe ist mit dem Meerwasser der Fall. Nach *Fasselly* und *Leroide* enthalten Meeralgen (Fucus vesiculosus und Chondrus crisp.) 0,01 bis 0,07 mg Arsen auf 100 g Substanz. *Thirgardt*[5]) fand dagegen, daß Fische, die in arsenhaltigem Wasser lebten, Arsen im Fleisch anhäufen. Auf 100 g Fleisch fanden sich von 0,004 bis 0,01 mg As. *Gautiers* zusammen mit *Clausmann*[6])

[1]) *Bloemendal*, Dissertation, Leyden.

[2]) *Van Itallie* und *van Eek*, Pharm. Weekblad **49**, 1157, 1913.

[3]) *Lydia Bulyghin*, Bull. soc. de Bucaresti **28**, 1341, 1915.

[4]) *Gautier* bemerkt selbst, dies sei „résultat extraordinaire, que je ne donne que pour mémoire“.

[5]) *Thirgardt*, Dissertation, Würzburg 1899.

[6]) *Gautier* und *Clausman*, Rev. intern. fals. **17**, 115, 1904.

fortgesetzte Untersuchungen von 1904 ergaben das Resultat, daß Salzwasserfische recht reich an Arsen waren. Knurrhahn (Muskel) enthielt von 0,008 bis 0,030 mg, Makrele 0,003 bis 0,004 mg, Krebse 0,045 mg, Krabben 0,0016 mg, die Schale dagegen 0,076 mg — alles auf 100 g berechnet. Außer *Gautier* hat *Bertrand* 1902 Analysen über den Arsengehalt von Fischen mitgeteilt. Auch er kam zu einem positiven Resultat, aber seine Werte waren noch kleiner als die von *Gautier* angegebenen.

Die angeführten Untersuchungen leiden unzweifelhaft an denselben Mängeln, wie sie oben für die Untersuchungen von Organen warmblütiger Tiere geltend gemacht wurden. Die Angaben sind außerdem so unvollständig und wenig zahlreich, daß man daraus unmöglich sichere Schlüsse ziehen kann. Immerhin machen sie es wahrscheinlich, daß Fische reicher an Arsen sind als warmblütige Tiere. Die quantitativen Angaben sind jedoch für die Fische ebenso unvollständig wie für die Warmblüter. Daher ist es auch hier wünschenswert, die Untersuchungen in größerem Maßstab und mit einer exakteren Methode fortzusetzen.

Über ausführliche Untersuchungen über den Arsengehalt der *Vegetabilien* ist in mehreren Abhandlungen von *Jadin* und *Astruc*[1]) berichtet.

Getrocknete Gemüse. Reis 175 g 0,007 mg As, braune Bohnen 100 g 0,026 mg, 210 g 0,026 mg, weiße Bohnen 175 g 0,010 mg, geschälte Erbsen 135 g 0,026 mg, 100 g 0,026 mg, Kichererbsen 175 g 0,009 mg, Linsen 175 g 0,010 mg.

Frische Gemüse. Artischocken 175 g 0,010 mg, Cichorie 70 g 0,010 mg, Frühjahrssalat 85 g 0,009 mg, Lattich 70 g 0,023 mg, Spinat 70 g 0,009 mg, Kürbis 70 g 0,009 mg, Petitspois 140 g 0,004 mg, Sellerie 70 g 0,020 g, Möhren 70 g 0,005 mg, Radieschen 70 g 0,010 mg, Kresse 70 g 0,012 mg, Blumenkohl 70 g 0,002 mg, Zwiebel 70 g 0,003 mg, wilder Spargel 105 g 0,010 mg.

Getrocknete Früchte. Walnüsse 140 g 0,013 mg, Haselnüsse 140 g 0,011 mg, Mandeln 140 g 0,025 mg, Datteln 175 g 0,012 mg.

Frische Früchte. Kastanien 140 g 0,005 mg, Reinetten 85 g 0,005 mg, Birnen 70 g 0,007 mg, Äpfel 70 g 0,011 mg, Mandarinen 70 g 0,012 mg, Ananas 70 g 0,008 mg, Bananen 70 g 0,006 mg. Auf 100 g frische Substanz Luzerne 0,018 mg, Wicken 0,020 mg, Klee 0,012 mg; *Kartoffel 0,008 mg*, Zuckerrüben 0,005 mg, Mais (Stengel) 0,004 mg, *Korn 0,050 mg, Hafer 0,050 mg*, Kleie 0,010 mg, Wiesengras 0,025 mg.

Die sämtlichen Analysen sind nach *Bertrands* Methode ausgeführt. In seiner letzten Publikation teilte derselbe Autor folgende Werte mit für 100 g frischer und trockener Substanz: Luzerne 0,018 bis 0,050 mg, spanischer Klee 0,015 bis 0,056 mg, Vicia faba 0,020 bis 0,054 mg, Weideklee 0,012 bis 0,037 mg, Rüben 0,005 bis 0,061 mg, *Kartoffeln* 0,008 bis 0,031 mg, Populus nigra 0,007 bis 0,019 mg, *Reis* 0,007 bis 0,008 mg, Kastanien 0,005 bis 0,011 mg, Mais 0,003 bis 0,036 mg, Korn (Hordeum disticum)

[1]) *Jadin* und *Astruc*, C. r. de l'acad. des sciences **154**, 893, 1912; **155**, 291, 1912; **159**, 268, 1914.

0,050 bis 0,055 mg, Hafer 0,050 bis 0,062 mg, Heu 0,025 bis 0,053 mg, Kleie 0,010 bis 0,012 mg.

Die angeführten Analysen ergeben, daß die Vegetabilien bedeutend reicher an Arsen sind als tierische Organe. Dieses Arsen kann natürlich nur aus der Ackererde selber oder aus künstlichen Düngemitteln stammen. *Zuccari*[1]) bestimmte den Arsengehalt der Ackererde in einer größeren Anzahl Proben von den verschiedensten Formationen, frei von zufälligen Verunreinigungen, und fand auf 100 g Erde 0,187 bis 6,0 mg — also recht beträchtliche Arsenmengen. Das Arsen schien parallel mit Eisen vorzukommen. Obgleich diese Untersuchungen allein keineswegs zu einem allgemeinen Schluß über den Arsengehalt der Ackererde berechtigen, so dürften sie doch zeigen, woher das Arsen der Pflanzen stammt.

Sämtliche oben angeführten Untersuchungen geben folgendes Bild von der Stellung des Arsens in der organischen Welt. Das Arsen stammt aus dem Erdboden. Von dorther wird es von den Pflanzen absorbiert. Mit diesen geht es in den Organismus der Pflanzenfresser und von da aus in den der Fleischfresser über. Bei den Seetieren stammt das Arsen aus dem Meerwasser. Aus diesem wird es von Algen, Plankton usw., die den Fischen zur Nahrung dienen, resorbiert. Auch die Raubfische erhalten folglich ihr Arsen aus der Nahrung und somit indirekt aus Algen und Plankton. Möglicherweise nehmen die Fische einen Teil des Arsens direkt aus dem Wasser auf. Damit sind jedoch, wie oben erwähnt, nicht alle Möglichkeiten für die Aufnahme von Arsen in tierische Organe erschöpft. Die *Luft* kann Arsen enthalten, hauptsächlich in Form von Arsenstaub. So ist nach der schwedischen Arsenkommission vom Jahre 1905 der *Staub* in den Städten arsenhaltig. Nach derselben Quelle sowie nach mehreren ausländischen Forschern (z. B. *Bruns*, *Schmith* und *Jenks* u. a.) ist Kohle arsenhaltig. Bei der Verbrennung kann Arsen in die Luft übergehen und von da in die Lungen aufgenommen werden. Nach *Blomquist* können diese Mengen so bedeutend werden, daß Arsenvergiftung entsteht.

Nach *Gautier* beträgt für den Menschen die Summe der täglichen Arsenzufuhr $^{21}/_{1000}$ mg. Dazu liefert die animalische Nahrung — Fleisch und Milch — den relativ geringsten Beitrag. Dagegen soll nach *Gautier* die Hauptquelle für das Arsen in *Wein* und *Wasser* zu suchen sein.

Ein Vergleich zwischen den Arsenwerten, die nach unseren Untersuchungen von normalen Individuen ohne medikamentöse Arsenzufuhr mit dem Harn ausgeschieden werden, mit den Werten für den Arsengehalt der Nahrungsmittel, wie sie sich aus den oben referierten Untersuchungen ergeben, läßt es sehr wahrscheinlich erscheinen, daß die früheren Bestimmungen des Arsengehaltes der Nahrungsmittel sehr mangelhaft sein müssen. Ebenso wie die Harnanalysen früher zu kleine Werte ergeben haben, so dürfte vermutlich dasselbe bei den

[1]) *Zuccari*, Gazz. chem. ital 43, II, 178, 1914.

Nahrungsmittelanalysen der Fall sein. Untersuchungen darüber sind von uns in ziemlich großer Ausdehnung ausgeführt worden und in Tabelle V wiedergegeben. Zum Vergleich werden die von früheren Autoren gefundenen Werte angeführt.

Die angeführten Untersuchungen dürften einigermaßen genügen, um eine Übersicht über die Arsenmengen zu geben, die in unseren gewöhnlichsten Nahrungsmitteln vorkommen — wenn auch die Fleischanalysen gern etwas zahlreicher hätten sein können (äußere Umstände haben dies verhindert). Es fällt sofort in die Augen, daß die Arsenmenge nie konstant ist, sondern von einer Probe zur anderen wechselt. Dies stimmt mit den Befunden früherer Forscher völlig überein. Vergleicht man dagegen die verschiedenen Gruppen, Vegetabilien, Fleisch und Fisch, untereinander, so unterscheiden sie sich in bezug auf die Arsenmenge scharf voneinander. So haben die Analysen der Vegetabilien einen Arsenwert von 0 bis 0,11 mg ergeben, oder, wenn man von dem Hafermehl als extremen Fall absieht, 0,05 mg. Der Durchschnittswert ist 0,02 mg pro 100 g. Für Fleisch ist der Durchschnittswert 0,01 mg (von 0 bis 0,03 mg); für Fisch dagegen 0,13 mg (von 0,05 bis 0,40 mg). Fleisch enthält also auf 100 g weniger Arsen als eine entsprechende Gewichtsmenge Vegetabilien. Dies ist jedoch nur scheinbar. Was den relativ hohen Arsengehalt der Vegetabilien im Vergleich zum Fleisch bedingt, ist ihr verschiedener Wassergehalt. Die wasserhaltigen Vegetabilien enthalten nämlich im Durchschnitt nur 0,007 mg As, die trockenen dagegen 0,03 mg. Berechnet man das Fleisch als wasserfrei, so wird sein Arsengehalt nicht geringer als 0,05 mg und damit höher als der der Vegetabilien.

Was bei den Analysen am meisten auffällt, ist die relativ außerordentlich große Arsenmenge, die die *Fische* enthalten. Zunächst interessiert dabei die Frage, ob diese Arsenmenge mit der Nahrung aufgenommen wird, oder mit anderen Worten, ob das *Fleisch* des Fisches so reich an Arsen ist. Es ist nämlich denkbar, daß die überwiegende Arsenmenge als Bestandteil von Gräten und Haut vorhanden sein könnte. Um hierüber Klarheit zu gewinnen, wurde in einem der Hechtversuche die Hechthaut analysiert: 389 g enthielten 0,011 mg As. Es fand sich also nicht mehr Arsen als in der Muskelsubstanz (Hechtanalyse Nr. 2 in der Tabelle). In fast allen Versuchen wurde der Fisch vor der Analyse von Gräten befreit (aber im allgemeinen nicht von der Haut), so daß man behaupten kann, die gefundenen Werte geben wirklich die Arsenmenge des Fischfleisches an. Von den 19 untersuchten Fischproben enthielten nur zwei weniger als 0,05 mg As, neun Proben zwischen 0,05 und 0,1 mg, vier Proben zwischen 0,1 und 0,2 mg, sowie eine 0,2 mg und zwei Proben über 0,3 mg As, alles auf 100 g frische Substanz berechnet. Nach *Hammarstens* Tabellen ent-

Tabelle V.

Art der Probe	Menge zur Analyse g	As in mg in 100 g nach Analyse des Autors	As in mg in 100 g nach	Autoren
Vegetabilien:				
frische				
Kartoffeln	50	0	0,008	*Jadin u. Astruc*
Weißkohl	100	0 — 0,01	0,013	„ „ „
Futterrüben	50	0 — 0,004	0,005 — 0,061	„ „ „
Möhren	50	0,022 — 0,01	0,007	„ „ „
Rote Rüben	50	0 — 0,02	—	„ „ „
trockene				
Braune Bohnen	10	0,055 — 0,07	0,026	„ „ „
Grüne Bohnen	10	0 — 0,08	0,004	„ „ „
Gelbe Erbsen	10	0 — 0	0 — 0,20	„ „ „
Haferkörner	10	0 — 0,05	0,05 — 0,06	„ „ „
Haferflocken	10	0 — 0	—	„ „ „
Hafermehl	10	0,11 — 0,11	—	„ „ „
Gerstenmehl	10	0 — 0	0,05	„ „ „
Roggenmehl (ungesichtetes)	10	0,05	0,01[1])	„ „ „
Weizenmehl	10	0 — 0	—	„ „ „
Fleisch, frisch:				
Rindfleisch	100	0,01 — 0,01	0,0006 — 0,0008	*Gautier*
„	100	0,02 — 0,01	—	„
Hühnerfleich	100	0 — 0,02	0,0003	„
Rindfleisch (gemahlen)	50	0,01 — 0,06	—	„
Rindsleber	100	0	—	„
Niere	100	0	—	„
Fisch, frisch:				
Barsch	100	0,08 — 0,08		
Hecht	100	0,01 — 0,02		
„	100	0,05 — 0,034		
„	111	0,04		
Hering	100	0,04		
„	100	0,08		
„	100	0,08		
Heilbutt	100	0,06		
„	90	0,18		
Dorsch	100	0,08		
„	100	0,05		
„	100	0,18		
„	85	0,10		
„	99	0,15		
„	125	0,20		
„	79	0,41[2])		
Wittling	94	0,10		
„	96	0,13		
„	92	0,10		
„	98	0,33		
	—	—	0,0025	
Knurrhahn	—	—	0,006	*Gautier*
„	—	—	0,067	

[1]) Kleie. — [2]) Die Analyse ist gütigst von Prof. *Ramberg*, Lund, ausgeführt.

hält das Fischfleisch 10 bis 15 Proz. feste Bestandteile (Eiweiß, Extraktivstoffe und Fett), der Rest ist Wasser. Auf Trockensubstanz berechnet, kann also im Fisch normalerweise die höchst beträchtliche Arsenmenge bis zu 4 mg auf 100 g Trockensubstanz vorkommen. Die von uns nachgewiesenen Werte übersteigen also alle früheren Analysen ganz bedeutend.

In Übereinstimmung mit der Auffassung *Gautiers* und anderer liegt die Vermutung nahe, daß der Fisch das Arsen mit der Nahrung aufnimmt: Plankton, Algen usw., und daß diese es ihrerseits aus dem Wasser aufnehmen. *Gautier*[1]) fand nämlich im Wasser, in 5 m Tiefe 30 km von der Küste der Bretagne entfernt entnommen, 0,009 mg anorganisches und 0,008 mg organisches Arsen pro Liter. Wasser aus dem Atlantik (Gegend der Azoren) ergab in 10 m Tiefe 0,025 mg As, in 1335 m Tiefe 0,010 mg As und in 5943 m Tiefe 0,080 mg As. Dies ist eine sehr annehmbare Erklärung für das Vorkommen von Arsen in Salzwasserfischen. Dagegen ist es sehr überraschend, in *Süßwasserfischen* gleichgroße Arsenmengen zu finden. Um weitere Klarheit über dieses Verhalten zu bekommen, wurden Arsenanalysen von Süßwasser, Wasserleitungswasser und Wasser aus einigen Binnenseen in Skåne ausgeführt. Das Salzwasser wurde aus dem Öresund in verschiedener Tiefe und so weit von benachbarten Ortschaften entnommen, daß eine Verunreinigung durch Kloakenwasser ausgeschlossen war. In zwei Analysen von 800 ccm fand sich 0,22 und 0,22 mg[2]) As bzw. 0,27 mg As auf 1 Liter. Die Analysen des Wasserleitungswassers von Malmö, Lund und Helsingborg ergaben nur für das Malmöwasser kleine Spuren von Arsen pro Liter (0,007 bis 0,007 mg); die übrigen waren arsenfrei. Die Analysen von dem Wasser aus dem *Ringsee* ergaben dagegen für zwei Proben 0,076 bzw. 0,106 mg pro Liter. Wasser aus dem *Vombsee* enthielt im Liter 0,05 und 0,076 mg As[3]). Damit ist die Erklärung für das Arsenvorkommen in Süßwasserfischen gegeben.

Den angeführten Analysen zufolge sind die Arsenmengen, die täglich mit der Nahrung aufgenommen werden, nicht von konstanter Größe, sondern schwanken zwischen 0 und Mengen von über 1 mg pro Tag, je nach der Beschaffenheit der Nahrung. Da die mit der Nahrung aufgenommene Arsenmenge vollkommen hinreicht, um den Arsengehalt des Harns zu erklären, kann man also vermuten, daß der normale Arsengehalt des Harns von dem mit der Nahrung aufgenommenen Arsen kommt.

---

[1]) *Gautier*, C. r. de l'acad. des sciences 137, 232, 1903.

[2]) Doppelanalyse.

[3]) In *Kunkels* Abhandlung (Zeitschr. f. physiol. Chem. 44, 511, 1904) wird mitgeteilt, daß *Hofmann* im Dresdener Wasserleitungswasser fast 0,1 mg As/Liter gefunden hat.

Die Harnanalysen ergaben, daß die ausgeschiedene Arsenmenge in 65 Proz. der Fälle zwischen 0 und 0,1 mg pro Tag lag, in 26 Proz. lag sie zwischen 0,1 und 0,2 mg und in 9 Proz. der Fälle über diesen Werten. Nimmt man an, daß ein Mensch täglich zu sich nimmt: gegen 350 g Brot, entsprechend etwa 200 g Mehl mit einer Arsenmenge von etwa 0,03 mg auf 100 g, und ungefähr 200 g Fleisch mit durchschnittlich 0,012 mg As auf 100 g, so repräsentieren diese Nahrungsmengen zusammen gegen 0,08 mg As. Die übrigen Nahrungsmittel (Kartoffeln, Milch und Fett) können vermutlich als sehr arsenarm betrachtet werden. Die Arsenmenge, die als Tagesaufnahme herauskommt, entspricht also im großen ganzen dem täglich ausgeschiedenen Arsen. Wenn jedoch in vielen Fällen (35 Proz.) die Arsenwerte im Harn wesentlich höhere Ziffern erreichen, so muß die Ursache dafür entweder ein zufällig größeres Arsenvorkommen in den genannten Nahrungsmitteln sein, z. B. eine zufällige Verunreinigung der Nahrung mit Arsen aus der Umgebung bei der Zubereitung oder später, oder die erhöhte Arsenausscheidung ist dadurch verursacht, daß statt des Fleisches der viel arsenreichere Fisch genossen worden ist. Eine zufällig erhöhte Arsenmenge in Mehl und Fleisch darf hier, wo es sich um eine Beköstigung im Großen handelt (Krankenhauspatienten) als minder wahrscheinlich betrachtet werden, ist aber natürlich nicht mit Bestimmtheit auszuschließen. Dasselbe gilt für die andere Möglichkeit — Verunreinigung mit Arsen. Beide Möglichkeiten entziehen sich indessen aus technischen Gründen einer experimentellen Untersuchung. Dagegen war es sehr leicht, eine experimentelle Untersuchung über die Bedeutung der Diät für den Arsengehalt des Harns anzustellen. Solche Untersuchungen waren doppelt wertvoll, indem sie zugleich die angeführten Analysen sowohl hinsichtlich der Schwankungen im Arsengehalt des Harns, wie hinsichtlich der ungleichen Arsenmengen in den Nahrungsmitteln kontrollierten. Außerdem erhielt man dadurch eventuell eine Erklärung für die gefundenen beträchtlichen Schwankungen im Arsengehalt des Harns.

2. Harnanalysen nach Ernährung mit arsenarmer und arsenreicher Nahrung.

Von den gefundenen Werten für den Arsengehalt der Nahrungsmittel ausgehend, hatte man beim Anstellen der Versuche zwei Aufgaben zu lösen. Einerseits mußte man eine so arsenarme Diät wie möglich wählen, andererseits eine Diät mit dem höchstmöglichen Arsengehalt, und dies natürlich vermittelst einer Ernährung mit *Fisch*. Dagegen war es von vornherein recht schwierig, die möglichst arsenarme Diät zusammenzustellen wegen der Schwankungen im Arsengehalt der Nahrungsmittel. Dazu kommt noch, daß mehrere wichtige Nahrungsmittel, wie Eier, Käse und andere, aus äußeren Gründen nicht auf ihren Arsengehalt hatten untersucht werden können. Indessen dürfte

eine Diät, bestehend aus Mehl (vielleicht namentlich Weizenmehl), Eiern und Milch [zwei Analysen von einem Liter Milch ergaben 0,01 und 0,02 mg As[1])], sehr arm an Arsen sein, besonders wenn man gleichzeitig dafür sorgt, zur Untersuchung solche Fälle zu wählen, wo die tägliche Nahrung aus anderen Gründen in beträchtlichem Grade, sogar bis zur Unterernährung, eingeschränkt ist. Konnte man dann nach einiger Zeit plötzlich zur Fischdiät übergehen, so hatte man eventuell eine deutliche Änderung der mit dem Harn ausgeschiedenen Arsenmenge zu erwarten.

Bekanntlich läuft die seit *Cruveillers* Tagen angewendete Ulcuskur darauf hinaus, daß man nach einer gewissen Hungerperiode (hier gewöhnlich nur einen Tag) die Patienten eine Zeitlang nur mit Milch oder, wie hier geschehen, mit Milch und Sahne füttert. Darauf wird der Kost allmählich Milchsuppe, Mehlbrei, Zwieback und Eier zugefügt, also eine sehr arsenarme Nahrung, die während der ersten Tage in verhältnismäßig geringer Menge zugeführt wurde[2]). Da gekochter frischer Fisch leicht verdaulich ist, bestand kein Hindernis, einige Wochen nach Beginn der Behandlung einen oder mehrere Fischtage einzuschieben. Das Ergebnis dieser Untersuchungen ist in folgenden Tabellen und Kurven zusammengestellt.

Serie 1. As-Gehalt des Fisches nicht bestimmt.

Datum	Harnmenge ccm	As im Harn mg	Kost
1915			
3. IX.	—	—	1½ Liter Sahnemischung *)
4. IX.	1200	0,06	2 „ „
5. IX.	1400	0,08	2 „ „
6. IX.	800	0,04	Sahnemischung-Milchsuppe ad libitum.
7. IX.	1400	0	„ „
8. IX.	1400	0,15	Mehlbrei u. a. **)
9. IX.	500	0	Eiermilch u. a.
10. IX.	800	0,004	„ „ „
11. IX.	1000	0	Zwiebackbrei.
12. IX.	1200	0,01	„
13. IX.	800	0,06	50 g Dorsch.
14. IX.	1700	0,79	250 g Scholle.
15. IX.	1000	0,50	190 g Eier, Brot, Butter.
16. IX.	1400	1,06	140 g Scholle.
17. IX.	900	0,21	110 g Beaf, Brei, Sahnemischung, Brot, Butter.
18. IX.	1550	0,75	Fisch.
19. IX.	1500	0,31	„
20. IX.	800	0,09	kein Fleisch, kein Fisch.
21. IX.	1200	0,02	„ „ „ „
22. IX.	900	0,04	„ „ „ „

*) Mischung von Milch und Sahne.
**) Die Kostangabe bedeutet, daß der Patient sich von dem angegebenen Tag an gerechnet dieser Nahrungsmittel bedient hat. Eine Ausnahme bilden Fisch und Fleisch, die nur an den angegebenen Tagen verzehrt wurden.

[1]) Die Analysen der Milch wurden von dem Assistenten *Sjöström*, Lund, ausgeführt.

[2]) Vgl. *K. Petrén*, Hygiäa 1913.

Serie 2.

Datum	Harnmenge ccm	As im Harn mg	Kost
1915			
7. X.	650	—	450 ccm Sahnemischung.
8. X.	650	0,02	800 „ „
9. X.	800	?	1 Liter „
10. X.	800	0,06	2 „ „
11. X.	1500	0,02	2 „ „
12. X.	1800	0,11	2 „ „
13. X.	1600	0	2 „ „
14. X.	1800	0,06	$1^1/_2$ „ „
15. X.	2300	0,23	400 Roggenmehlbrei, 900 Milchsuppe, 1200 Sahnemischung.
16. X.	2000	0,10	350 Roggenmehlbrei, 600 Milchsuppe, 1200 Sahnemischung.
17. X.	2400	0,15	800 Roggenmehlbrei, 600 Milchsuppe, 300 Eiermilch.
18. X.	2000	0,12	800 Roggenmehlbrei, 600 Milchsuppe, 300 Eiermilch, 1200 Sahnemischung.
19. X.	2700	0,12	450 Mehlbrei, 600 Milchsuppe, 300 Eiermilch, 1200 Sahnemischung, 300 Zwiebacksbrei.
20. X.	2100	0	400 Mehlbrei, 600 Milchsuppe, 300 Eiermilch, 1200 Sahnemischung, 300 Zwiebacksbrei.
21. X.	2200	0	400 Mehlbrei, 600 Milchsuppe, 300 Eiermilch, 1500 Sahnemischung, 100 g Fleisch, 30 g Brot, 1 Ei.
22. X.	2300	0	400 Mehlbrei, 600 Milchsuppe, 175 g Wittling, 1000 Sahnemischung, 50 g Brot, 1 Ei.
23. X.	2100	0,26	400 Mehlbrei, 600 Milchsuppe, 225 g Wittling, 1200 Sahnemisch., 300 Eiermilch, 70 Brot, 1 Ei.
24. X.	2200	0,31	300 Mehlbrei, 600 Milchsuppe, 300 g Wittling, 1000 Sahnemischung, 300 Eiermilch, 300 Zwiebacksbrei, 100 Brot, 1 Ei.
25. X.	2250	0,21	220 Mehlbrei, 600 Milchsuppe, 100 g Beaf, 1000 Sahnemischung, 300 Eiermilch, 300 Zwiebacksbrei, 120 Brot, 1 Ei.
27. X.	900	0,09	400 Mehlbrei, 600 Milchsuppe, 125 g Beaf, 600 Sahnemischung, 300 Eiermilch, 400 Zwiebacksbrei, 150 Brot, 1 Ei.
28. X.	1800	0,06	400 Mehlbrei, 600 Milchsuppe, 100 g Beaf, 600 Sahnemischung, 300 Eiermilch, 250 Brot, 1 Ei.
29. X.	2500	0,12	400 Mehlbrei, 600 Milchsuppe, 75 g Beaf, 600 Sahnemischung, 300 Eiermilch, 300 Brot, 1 Ei.
30. X.	1500	0,15	400 Mehlbrei, 600 Milchsuppe, 150 g Fisch, 600 Sahnemisch., 300 Eiermilch, 200 Brot.

22. X. 1915. 175 g Wittling = 0,18 mg As
23. X. 1915. 225 g „ = 0,17 „ „
24. X. 1915. 300 g „ = 0,42 „ „
Sa. = 0,76 mg As

Ausgeschieden vom 23. bis mit 25. X. 1915 = 0,77 mg As.

Serie 3.

Datum	Harnmenge ccm	As im Harn mg	Kost
1915 9. XI.	2000	0,04	1000 ccm Sahnemischung.
10. XI.	1150	0,05	1000 Mehlbrei, 850 Milchsuppe, 350 Sahnemischung, 250 Eiermilch.
11. XI.	1475	0	250 Mehlbrei, 600 Milchsuppe, 300 Sahnemischung, 250 Eiermilch.
12. XI.	1750	0	250 Mehlbrei, 600 Milchsuppe, 550 Sahnemischung, 250 Eiermilch, 250 Milch, 20 Brot.
13. XI.	1300	0	250 Mehlbrei, 600 Milchsuppe, 300 Sahnemischung, 250 Eiermilch, 500 Milch, 20 Brot.
14. XI.	1400	0	300 Milchsuppe, 900 Sahnemischung, 250 Eiermilch, 60 g Beaf.
15. XI.	1000	0	600 Milchsuppe, 300 Sahnemisch., 250 Eiermilch, 100 g Beaf, 150 Milch, 30 Brot, 20 Butter.
16. XI.	1000	0,07	600 Milchsuppe, 300 Sahnemisch., 200 Eiermilch, 150 g Heilbutt, 40 Brot, 20 Butter, 60 Ei.
17. XI.	1000	0,17	300 Milchsuppe, 900 Sahnemisch., 250 Eiermilch, 300 g Dorsch, 75 Brot, 35 Butter, 55 Ei.
18. XI.	2200	0,21	300 Milchsuppe, 600 Sahnemisch., 300 Eiermilch, 190 g Dorsch, 115 Brot, 40 Butter, 300 Milch, 1 Ei.
19. XI.			
20. XI.	1000	0,05	200 Mehlbrei, 300 Milchsuppe, 300 Sahnemisch., 300 Eiermilch, 80 g Beaf, 300 Milch, Brot, Butter, Ei.
21. XI.	800	0,04	300 Milchsuppe, 600 Sahnemisch., 100 g Beaf, 250 Brot, 125 Ei, 55 Butter.
22. XI.	1250	0,07	220 Mehlbrei, 300 Milchsuppe, 300 Sahnemisch., 90 g Beaf, 250 Eiermilch, 500 Milch.

16. XI. 1915. 150 g Heilbutt = 0,30 mg As
17. XI. 1915. 300 g Dorsch = 0,55 „ „
18. XI. 1915. 190 g „ = 0,19 „ „
Sa. = 1,03 mg As

Ausgeschieden: 17. XI. 1915. 0,17 mg As
18. XI. 1915. 0,21 „ „
19. XI. 1915. ! „ „
Sa. 0,38 mg As

Aus sämtlichen Versuchen geht übereinstimmend hervor, daß eine Kost, die überwiegend oder ausschließlich aus Vegetabilien, Milch und Eiern besteht, den Arsengehalt des Harns auf einen verhältnismäßig kleinen Wert herabbringt, oder daß der Harn, wie die Versuche 1, 2, 3 und 4 zeigen, dabei auch ganz arsenfrei werden kann. Ferner sieht man aus den Versuchen, daß ein Übergang zu Fischkost die Werte für die Arsenausscheidung sofort zum Steigen bringt, die dann nach Ausschaltung des Fisches aus der Kost entweder unmittelbar wieder

Serie 4.

Datum	Harnmenge ccm	As im Harn mg	Kost
1915 23. XI.	2000	0	900 Sahnemischung, 300 Mehlbrei, 1200 Milchsuppe, 300 Eiermilch.
24. XI.	2000	0	900 Sahnemischung, 400 Mehlbrei, 1700 Milchsuppe, 300 Eiermilch.
25. XI.	2400	0	900 Sahnemischung, 400 Mehlbrei, 1100 Milchsuppe.
26. XI.	2500	0	900 Sahnemischung, 400 Mehlbrei, 1200 Milchsuppe, 300 Eiermilch, 60 g Beaf.
27. XI.	3200	0,23	900 Sahnemischung, 500 Mehlbrei, 1100 Milchsuppe, 300 Eiermilch, 150 g Dorsch.
28. XI.	2500	0,23	900 Sahnemischung, 450 Mehlbrei, 600 Milchsuppe, 300 Eiermilch, 380 g Dorsch, 50 Butter.
29. XI.	2100	0,78	800 Sahnemischung, 700 Mehlbrei, 900 Milchsuppe, 300 Eiermilch, 200 g Wittling, 50 Brot, 50 Butter.
30. XI.	2300	0,32	800 Sahnemischung, 400 Mehlbrei, 1200 Milchsuppe, 400 Eiermilch, 100 g Fleisoh, 100 Brot, 50 Ei.
1. XII.	2300	0,19	600 Sahnemischung, 850 Mehlbrei, 600 Milchsuppe, 300 Eiermilch, 60 g Fleisch, 155 Brot, 75 Butter, 45 Ei.
2. XII.	1000	0,25	750 Sahnemischung, 550 Mehlbrei, 700 Milchsuppe, 550 Eiermilch, 75 g Fleisch, 390 Brot, 45 Ei, 1400 Milch.
3. XII.	2800	0,16	900 Sahnemischung, 550 Mehlbrei, 600 Milchsuppe, 300 Eiermilch, 50 g Fleisch, 230 Brot, 165 Butter, 45 Ei, 1100 Milch.

27. XI. 1915. 150 g Dorsch = 0,22 mg As
28. XI. 1915. 380 g ,, = 0,86 ,, ,,
29. XI. 1915. 200 g ,, = 0,66 ,, ,,
Sa. = 1,74 mg As

Ausgeschieden: 28. bis 30. XI. 1915 = 1,35 mg As.

auf ein früheres Minimum herabsinken oder langsam zurückgehen. Dies wird vielleicht am besten durch die sechs Kurven über die Arsenausscheidung demonstriert. Die Arsenmengen, die hierbei ausgeschieden werden, sind relativ höchst beträchtlich, sogar mehr als 1 mg As pro Tag (in Serie 1 1,06 mg, in Serie 4 0,78 mg und in Serie 6 1,34 mg As). Ein Vergleich zwischen den mit dem Fische aufgenommenen und den mit dem Harn ausgeschiedenen Arsenmengen wurde dadurch ermöglicht, daß die Arsenmenge in einem aliquoten Teile des Fisches, der dem Patienten verabreicht war, bestimmt wurde. Die Summe der während der Fischtage ausgeschiedenen Arsenmenge stimmt innerhalb der Fehlergrenzen gut mit den aufgenommenen Mengen überein (s. die Tabellen). Daraus ergibt sich, daß das im Fisch vorhandene

Serie 5.

Datum	Harnmenge ccm	As im Harn mg	Kost
1915 5. XII.	2500	0,14	900 Sahnemischung, 300 Milchsuppe, 600 Mehlbrei, 600 Milch, 30 Butter, 2 Eier.
6. XII.	1650	0,05	1400 Sahnemischung, 500 Milchsuppe, 270 Mehlbrei, 300 Eiermilch, 15 Butter.
7. XII.	3100	0,05	600 Sahnemischung, 300 Milchsuppe, 1200 Milch, 30 Butter, 30 Zwieback, 2 Eier.
8. XII.	1950	0,04	600 Sahnemischung, 300 Milchsuppe, 510 Mehlbrei, 900 Milch, 30 Butter, 30 Zwieback, 1 Ei.
9. XII.	2300	0,23	600 Sahnemischung, 600 Milchsuppe, 150 g Fisch, 600 Milch, 30 Butter, 25 Zwieback, 1 Ei.
10. XII.	1525	—	600 Sahnemischung, 300 Milchsuppe, 230 g Fisch, 600 Milch, 20 Butter, 50 Zwieback, 1 Ei, 85 Brot.
11. XII.	1525	0,34	600 Sahnemischung, 500 Milchsuppe, 250 g Fisch, 600 Milch, 55 Butter, 50 Zwieback, 1 Ei, 110 Brot.
12. XII.	1750	0,25	600 Sahnemischung, 550 Milchsuppe, 100 g Beaf, 600 Milch, 50 Butter, 1 Ei, 200 Brot.
13. XII.	1500	0,35	600 Sahnemischung, 600 Milchsuppe, 100 g Beaf, 600 Milch, 90 Butter, 200 Mehlbrei, 2 Eier, 230 Brot.
14. XII.	1100	0,30	900 Sahnemischung, 600 Milchsuppe, 80 g Beaf, 300 Milch, 70 Butter, 250 Mehlbrei, 2 Eier, 210 Brot.
15. XII.	1200	0,33	900 Sahnemischung, 600 Milchsuppe, 100 g Beaf, 300 Milch, 105 Butter, 300 Mehlbrei, 2 Eier, 225 Brot.
16. XII.	1300	0,23	300 Sahnemischung, 600 Milchsuppe, 100 g Beaf, 900 Milch, 110 Butter, 300 Mehlbrei, 2 Eier, 235 Brot.

As-Gehalt des Fisches nicht bestimmt.

Arsen resorbiert und sehr rasch ausgeschieden wird — in den meisten Fällen. In Serie 5 (und vielleicht auch 6) scheint dagegen eine Verzögerung der Ausscheidung vorzuliegen, insofern die Arsenmenge hier nur bis auf eine geringe Höhe (0,34 mg) steigt, sich dafür aber längere Zeit hält. Ähnliche Schwankungen findet man im Harn nach Aufnahme anorganischen Arsens (s. unten S. 401). Aus den Versuchsserien 3 und 6 geht überzeugend hervor, daß Fleisch in Form von Beefsteak die Arsenausscheidung nicht steigert, was nach den Fleischanalysen ja auch nicht zu erwarten war.

Auch wenn die Versuchsserien im großen ganzen außerordentlich gut übereinstimmen, so kann man doch nur von den Serien 1, 3 und teilweise 6 behaupten, daß sie rein schematisch nach der Theorie ausfallen. In den Serien 2, 4 und 5 sind die Verhältnisse komplizierter

Serie 6.

Datum	Harnmenge ccm	As im Harn mg	Kost
1915 11. XII.	2500	0,12	1200 Sahnemisch., 900 Milchsuppe, 550 Mehlbrei, 300 Eiermilch, 130 Butter.
12. XII.	1050	0,03	1200 Sahnemisch., 1300 Milchsuppe, 300 Eiermilch, 85 Butter.
13. XII.	2400	0,55	900 Sahnemisch., 1300 Milchsuppe, 500 Mehlbrei, 300 Eiermilch, 300 Fisch, 90 Butter.
14. XII.	3200	1,34	900 Sahnemisch., 1200 Milchsuppe, 500 Mehlbrei, 300 Eiermilch, 200 Fisch, 70 Butter, 15 Brot.
15. XII.	2000	0,22	600 Sahnemisch., 1200 Milchsuppe, 300 Eiermilch, 200 Fisch, 65 Brot, 1 Ei.
16. XII.	2800	0,78	600 Sahnemisch., 1150 Milchsuppe, 300 Eiermilch, 50 Beaf, 120 Butter, 100 Brot, 1 Ei.
17. XII.	2200	0,12	900 Sahnemisch., 1100 Milchsuppe, 300 Eiermilch, 100 Beaf, 125 Butter, 125 Brot, 2 Eier.
18. XII.	1800	0,29	600 Sahnemisch., 1200 Milchsuppe, 300 Eiermilch, 100 Beaf, 140 Butter, 170 Brot, 2 Eier.
19. XII.	2300	0,12	600 Sahnemisch., 1200 Milchsuppe, 300 Eiermilch, 100 Beaf, 100 Butter, 210 Brot, 2 Eier.
20. XII.	2200	0,04	900 Sahnemisch., 1250 Milchsuppe, 300 Eiermilch, 100 Beaf, 155 Butter, 245 Brot.
21. XII.	1500	0,04	900 Sahnemisch., 1200 Milchsuppe, 100 Beaf, 150 Butter, 220 Brot.

As-Gehalt des Fisches nicht bestimmt.

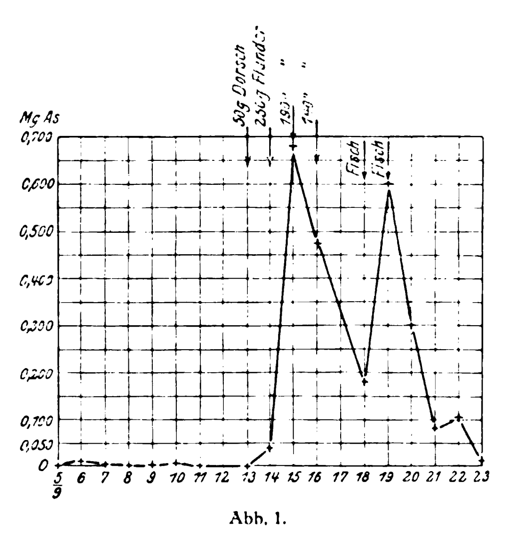


Abb. 1.

infolge der protrahierten Ausscheidung. Aber diese allein kann doch nicht alles erklären. In Serie 4 ist z. B. die Summe des ausgeschiedenen Arsens, wenn man die Tage, die auf die Fischdiät folgten (vom 31. November bis 2. Dezember), mitrechnet, 2,16 mg, während nur 1,74 mg aufgenommen wurden. Die ausgeschiedene Menge überstieg also den Arsengehalt des Fisches um 0,43 mg oder ein Viertel. Diese Menge muß daher aus den übrigen Nahrungsmitteln oder aus zufälligen Verunreinigungen stammen. In Serie 5 dürften sich wohl am ehesten solche

Umstände geltend machen. In Serie 2 findet man einen ähnlichen Fall *vor* Beginn der Fischdiät. Hier ist entweder eine zufällige Verunreinigung mit Arsen vorgekommen (was minder wahrscheinlich ist), oder die Mehlportion, die genossen worden ist, ist reicher an Arsen gewesen als gewöhnlich. Dieser Umstand steht keineswegs im Widerspruch zu den Mehlanalysen. (In diesem Zusammenhang sei daran erinnert, daß die Harnwerte immer das Ergebnis aus übereinstimmenden Doppelanalysen sind.) Man könnte sich unter Hinweis hierauf wohl auch die Möglichkeit vorstellen, daß auch die Arsenausscheidung während der Fischtage dieselbe Ursache habe — wenigstens teilweise. Dies wird jedoch unbestreitbar durch die Serien 1, 3 und 6 widerlegt. Namentlich dürfte Serie 6 überzeugend sein. Man sieht hier bei der gleichen Kost vor, unter und nach den Fischtagen eine Steigerung der Arsenausscheidung, die mit den Fischtagen zusammenfällt. Später begann die Arsenmenge zu sinken, erreichte nach einigen Tagen ein Minimum von 0,04 mg und hielt sich 2 Tage (bis zum Abschluß der Versuchsreihe) unverändert auf dieser Zahl.

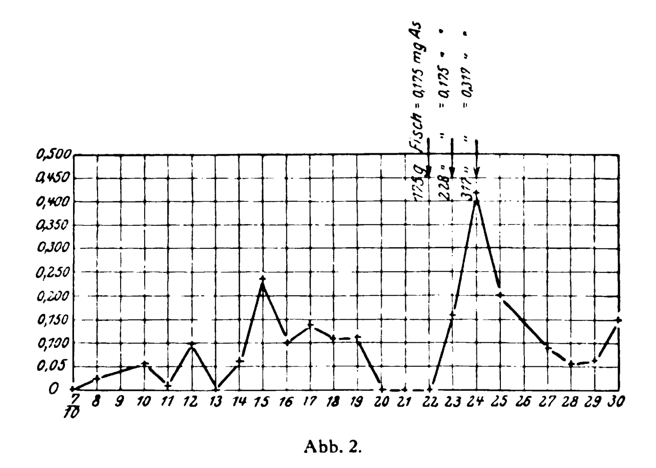


Abb. 2.

Damit dürfte der experimentelle Beweis erbracht sein, daß der Arsengehalt des Harns im allgemeinen aus der Nahrung stammt, und daß die Schwankungen in der Arsenmenge durch die wechselnden Arsenmengen, die in den verschiedenen Nahrungsmitteln enthalten sind, bedingt sind. Zieht man die relativ großen Arsenmengen, die bei Fischkost im Harn auftreten können, in Betracht, so sieht man ohne weiteres ein, daß alle früheren Anschauungen über normalen und übernormalen Arsengehalt im Harn, die dies nicht berücksichtigt haben, vollkommen irreführend sein müssen.

In einer Hinsicht dürften die angeführten Untersuchungen über die Arsenausscheidung nach arsenhaltiger Nahrung noch zu ergänzen sein. Wie man sieht, findet man in den verschiedenen Versuchen ziemlich große Schwankungen in der Geschwindigkeit, mit der das Arsen den Organismus im Harn verläßt. Eine Erklärung für ein solches Verhalten, daß einzelne Individuen rasch und quantitativ alles oder fast alles eingenommene Arsen ausscheiden, während andere Individuen eine viele Tage lang fortgehende Ausscheidung aufweisen, ist nicht leicht zu geben.

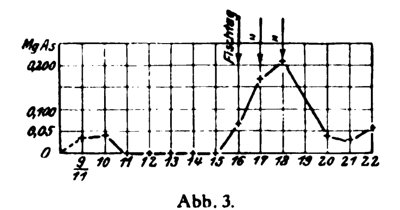


Abb. 3.

Abb. 4.

Aber da die Tatsache schärfer beleuchtet werden kann und muß, wurden speziell hierauf gerichtete Untersuchungen angestellt, wobei genau abgewogene, ziemlich große Arsenmengen in den Organismus eingeführt wurden, während gleichzeitig die Arsenausscheidung im Harn be-

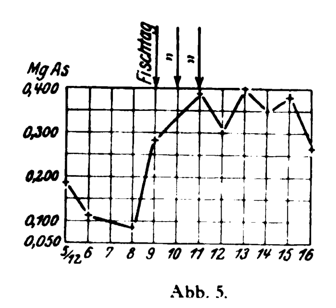


Abb. 5.

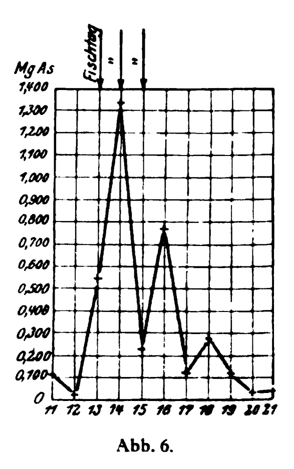


Abb. 6.

stimmt wurde. Da zu diesen Versuchen *anorganisches* Arsen verwendet wurde, konnte man durch Vergleich mit den oben erwähnten Nahrungsversuchen auch untersuchen, ob das Nahrungsarsen und die anorganischen Arsenpräparate sich gleich verhielten oder nicht.

3. Versuche über die Arsenausscheidung durch den Harn nach Einnahme von As per os.

Solche Versuche sind früher in großer Ausdehnung vorgenommen und veröffentlicht worden, was jedoch in Anbetracht aller unserer übrigen Versuchsergebnisse Nachuntersuchungen keineswegs überflüssig macht. Andererseits ist den früheren Untersuchungen ein größerer Wert beizumessen, da es sich hier um größere Arsenmengen handelt und Versuchsfehler bei der Methode eine verhältnismäßig minder wichtige Rolle spielen, als wenn es sich um so unbedeutende Arsenmengen handelt, wie sie normalerweise im Harn vorkommen.

Die ältesten Untersuchungen über Arsenausscheidung nach Einnahme von As sind bei den sogenannten Arsenikessern in Steiermark ausgeführt. *Schäfer* (1860) konnte im Harn solcher Personen nur Spuren von As nachweisen. *Craig-Maclagan* (1864) konstatierte dasselbe. *Büchner* und *Knap* (1885) konnten dagegen im Harn von Arsenikessern große Mengen As nachweisen. Doch war nach *Heffter* ihre Methode unzuverlässig[1]).

Die ersten, die systematische Untersuchungen über die Arsenausscheidung nach Einnahme medizinischer Dosen vornahmen, waren *Magencon* und *Bergeret*[2]). Nach Einnahme von Arsenmengen von 2 cg As_2O_5 mit Steigerung von 1 cg jeden fünften Tag bis auf 6 cg täglich ging das Arsen *rasch* in den Harn über — die Ausscheidung hielt sich während des Versuchs ziemlich konstant. 22 Tage nach Beendigung der Arsenmedikation hörte die Arsenausscheidung im Harn auf. Interessant genug trat nach Genuß von schwefelhaltigem (arsenfreien?) Mineralwasser von neuem Arsen im Harn auf. *Spallanzani* und *Zappa*[3]) fütterten verschiedene Tiere mit Arsenik. Die Ausscheidung hielt nicht immer mit der Resorption gleichen Schritt, wodurch bisweilen eine kumulative Wirkung (?) zustande kam. Indessen nicht, wenn *unschädliche* Dosen zugeführt worden waren. Nach 15 Tagen war bei Rindern alles Arsen durch den Harn ausgeschieden. *Paschkes* und *Obermeyer*[4]) stellten fest, daß metallisches Arsen sowohl von der Haut wie von der Unterhaut resorbiert wurde und später im Harn nachzuweisen war. Nach *Vitale*[5]) wird Schwefelarsen (As_2S_3) resorbiert und geht vorwiegend in den Harn über. Schon nach Aufnahme von 10 mg ließ sich As im Harn nachweisen. *Severi*[6]) fand, daß die Arsenausscheidung durch den Harn nach Einverleibung von As_2O_3 im Laufe von 4, höchstens 6 Tagen beendet war. Hier wird jedoch vorausgesetzt, daß die Dosis so groß ist, daß Vergiftung eintritt. Die Ausscheidung beginnt unmittelbar nach der Einspritzung (subkutan). Bei großen, mit 12- bis 13tägigem Intervall wiederholten Dosen wird die Eliminationszeit bedeutend verlängert.

---

[1]) Zitiert nach *Hausmann*, Pflügers Arch. **113**, 32, 1906.
[2]) *Magencon* und *Bergeret*, C. r. de l'acad des sciences **79**, 118, 1874.
[3]) *Spallanzani* und *Zappa*, Ann. di Agricoltura **131**, 25, 1887.
[4]) *Paschkes* und *Obermeyer*, Wien. med. Wochenschr. 1888.
[5]) *Vitale*, Bull. chem. Farm. 1893.
[6]) *Severi*, Jahresber. d. Tierchem. **23**, 1893 bis 1894.

Almquist und *Welander*[1]) veröffentlichten im Jahre 1900 besonders ausführliche und sehr interessante Untersuchungen, wohl die instruktivsten, die sich in der Literatur finden. Kranke, die an Psoriasis litten, erhielten intravenöse Einspritzungen von arseniger Säure, beginnend mit 1 mg As_2O_3 und steigend um 1 mg täglich, bis eine Tagesdosis von 20 mg erreicht war. Dann wurden die Injektionen mit diesem Quantum einige Zeit fortgesetzt. Im Verlaufe dieser Zeit und später nach abgeschlossener Behandlung wurde der Harn von Apotheker *Blomquist* quantitativ auf Arsen untersucht. In zwei Fällen wurde die Arsenausscheidung 40 bzw. 43 Tage lang täglich bestimmt, dann nur noch ein einziges Mal. In 15 anderen Fällen wurde der Harn mehr sporadisch während und nach Schluß der Behandlung untersucht. *Blomquists* Methode scheint hier, wo es sich um die Bestimmung relativ großer Arsenmengen handelt, recht brauchbar zu sein. Außerdem verbrannte er in diesen Versuchen den Harn mit Salpetersäure—Schwefelsäure, nicht mit Permanganat. Indessen vermißt man vollständig Kontrolluntersuchungen von Normalharn, dem Arsenik in gleicher Menge zugesetzt war. 2 Tage nach Beginn der Injektionen (mit täglich 1 bis 2 mg As_2O_3) tritt Arsen in merkbaren Mengen im Harn auf und erreicht nach etwa 20 Injektionen sein Maximum, das äußerst variabel ist — von 4,1 bis 31 mg pro Tag. Dieses Maximum, das für die am eingehendsten untersuchten Fälle 7,5 bzw. 5,0 mg As_2O_3 betrug, blieb beinahe unverändert stehen, solange die Injektionen fortgesetzt wurden. Nach der Behandlung sank die Arsenausscheidung rasch die ersten 4 Tage, dann langsamer. Die Dauer der Ausscheidung war äußerst verschieden. In einem Falle betrug sie nach 4 Tagen 0,4 mg, in einem anderen nach 50 Tagen noch 1,2 mg täglich. Doch war in den meisten Fällen die Ausscheidung nach 1 bis 1½ Monat auf einen unbedeutenden Betrag herabgesunken. Die im Harn ausgeschiedene Arsenmenge entsprach nie der in den Organismus eingespritzten. Die höchste beobachtete Ausscheidung von As war etwas größer als die Hälfte der injizierten Menge. In den meisten Fällen wurde ein Fünftel bis ein Viertel, bisweilen jedoch nur ein Zehntel ausgeschieden. Was die übrigen Eliminationswege anlangt, so geben die Autoren an, daß nur sehr wenig Arsen mit den Fäzes eliminiert wurde, im Gegensatz zu dem Verhalten bei der Aufnahme von Arsen per os, obgleich es da in gelöster Form (Liquor kalii arsenici.) eingeführt wurde. Mit dem Speichel wurden nur Spuren von Arsen ausgeschieden. Dagegen konnte im Schweiß eine beträchtliche Arsenmenge qualitativ nachgewiesen werden, die indessen nicht quantitativ bestimmt wurde (diese Angabe bedarf dringend der Nachprüfung). Die größte Arsenmenge verblieb also höchstwahrscheinlich im Körper. *Almquist* und *Welander* nehmen jedoch nicht an, daß diese an bestimmten Stellen des Körpers, z. B. in der Leber, deponiert werde. Sie meinen im Gegenteil, daß das meiste Arsen im Blute und in den Gewebssäften zirkuliere. Als Stütze für diese Auffassung werden zwei Analysen von Blut von Patienten angeführt, worin sich nicht weniger als 17 bis 37 mg As_2O_3 pro Kilogramm fanden, also eine außerordentlich große Menge.

Verglichen mit *Almquists* und *Welanders* eingehenden Untersuchungen sind die übrigen Untersuchungen anderer Autoren von geringerer Bedeutung. Soweit sie vorliegen, bestätigen sie *Almquists* und *Welanders* Beobachtungen und ergänzen sie. Im Verlaufe mehrerer Jahre hat *Heffter* seine ausgedehnten Studien über dieses Problem mitgeteilt. 1899 ver-

[1]) *Almquist* und *Welander*, Nord. med. ark. 1900, Nr. 23.

öffentlichte er[1]) eine Reihe experimenteller Versuche an Tieren. Die Ausscheidung durch den Harn geht in verschiedenen Fällen verschieden schnell. 19 mg As_2O_3, dem Organismus per os zugeführt, bedingten eine Ausscheidung von 1,6 mg im Harn, 15 mg subkutan ebenfalls 1,6 mg, während 15 mg per Rektum gegeben nur 0,3 mg im Harn ergaben. Die Ausscheidung durch den Harn, die also nur 8 bis 10 Proz. der eingeführten Menge umfaßt, nimmt ungleich lange Zeit in Anspruch. Der größte Teil des ausgeschiedenen Arsens verläßt den Organismus mit den Fäzes. Die Hauptmasse bleibt jedoch im Organismus zurück und lagert sich in Leber, Haar, Haut und Blut ab. Im Jahre 1906 teilt *Heffter* weitere Untersuchungen hierüber mit[2]). Die Versuche wurden an Menschen und Hunden angestellt. Bei Fütterung von Hunden mit As_2O_3 (zum Schlusse mit 55 mg pro Tag) wurden 4 Proz. im Harn und 13,7 Proz. in den Fäzes wiedergefunden. Bei subkutaner Injektion fanden sich 18 bis 19 Proz. im Harn und sehr wenig in den Exkrementen wieder (in guter Übereinstimmung mit *Almquist-Welander*). Das Arsen wird in den *Haaren* abgelagert, wo es noch nach Monaten und Jahren nachzuweisen ist. In der Leber wird ein großer Teil des Arsens aufgespeichert. Auch in der Knochensubstanz erfolgt eine Ablagerung. *Heffter* glaubt, daß das Arsen an die Nucleine gebunden werde. Bei Versuchen an Menschen, die sich einer Arsenbehandlung unterzogen, fand *Heffter* nach Einnahme per os 8 bis 14 Proz. des Arsens im Harn; nach subkutaner Injektion 10 Proz. und nach intravenöser Behandlung 22 Proz. Per Klysma eingeführt ging kein Arsen in den Harn über. Schließlich teilt *Heffter*[3]) eine Untersuchung einer Frau mit, die 14 Tage ein arsenhaltiges Mineralwasser erhielt (1 mg im Liter). 3 Wochen nach Schluß der Kur enthielt der Harn noch 0,1 mg As pro Liter.

Ähnliche Versuche wie die von *Heffter* wurden 1906 von *Hausmann*[4]) veröffentlicht, der einen Hund mit Arsen fütterte (0,01 g As_2O_3, steigend bis 0,29, zweimal wöchentlich). Anfangs wurde kein Arsen im Harn ausgeschieden, sondern ging quantitativ mit den Fäzes ab. Nachdem die Fütterung einige Monate fortgesetzt war, gingen 5,6 Proz. des Arsens in den Harn über, während 70 Proz. mit den Exkrementen abgingen. Der Versuch wurde 18 Monate fortgesetzt. Mit der Zeit veränderte sich die Ausscheidung dahin, daß nur etwa 30 Proz. mit den Exkrementen abgingen. Die absolute Menge im Harn stieg gleichzeitig auf 51,5 mg (nur eine Analyse). Die Harnanalysen sind indessen zu wenig zahlreich, um voll beweisend zu sein. Wie es scheint, geht aus den Versuchen hervor, daß das Arsen entweder in großen Mengen im Körper abgelagert wird, oder auch, daß es in einer Form abgeht, die sich mit den angewendeten Methoden nicht nachweisen läßt.

Ferner sind die Untersuchungen von *Cloetta*[5]) zu erwähnen. Er stellte Versuche an Kaninchen und Hunden an. Im Laufe von 10 Monaten erhielt ein Kaninchen As_2O_3 in steigenden Mengen, schließlich 33 mg pro Tag. Darauf erhielt es 3 Tage zweimal täglich 14 mg. Im Harn fanden sich in diesen Tagen 1,7 mg, in den Fäzes pro Tag 19 mg. Darauf wurde das Tier getötet. In der Leber wurden 25 mg As_2O_3 gefunden. Ein Foxterrier

---

[1]) *Heffter*, Therap. Monatsschr. **13**, 613.
[2]) *Derselbe*, Arch. intern. de pharmacodynamie et de therapie **15**, 399.
[3]) *Derselbe*, Ergebn. d. Physiol. 1903, S. 115.
[4]) *Hausmann*, Pflügers Arch. **113**, 327.
[5]) *Cloetta*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **54**, 996, 1906.

wurde im Laufe von 11 Monaten mit Arsenik in steigenden Dosen immunisiert, bis zu 25 mg As_2O_3, in gelöster Form 5 Tage hintereinander. In diesen 5 Tagen wurden mit dem Harn täglich nur 4,1 mg ausgeschieden. Darauf erhielt das Tier Arsenik in fester Form bis zu 100 mg. Dabei wurden im Harn nur 2,3 mg ausgeschieden, in den Exkrementen wurden 100 mg gefunden. Später, nach etwa 1½ Jahren, war die tägliche Arsenikdosis auf 500 mg erhöht. Der Harn enthielt jetzt pro Tag 19,3 mg, später nur 9,7 mg. Nach 2 Jahren war die Dosis 800 mg täglich. Im Harn erschienen nur 8,8 mg. Ohne weiteren Übergang wurde die Dosis jetzt auf 1500 mg und darauf auf 2500 mg erhöht. Der Harn enthielt auch weiterhin nur 6,2 mg. Kurze Zeit darauf erhielt der Hund subkutan 40 mg Arsenik, worauf er *starb*. Eine Immunisierung lag also nicht vor. Die Ursache für die große Toleranz kann also nur die sein, daß das relative Resorptionsvermögen des Darmes allmählich sehr bedeutend herabgesetzt wurde. Dafür sprechen auch die Harnanalysen. Während anfangs 20 Proz. des Arsens im Harn ausgeschieden wurden, ging der Arsengehalt desselben allmählich auf 2 bis 3 Proz. herab, ja schließlich bei 2500 mg As, die der Hund 10 Tage lang täglich verzehrte, auf 0,25 Proz.

Salkowski[1]) fütterte Kaninchen mit Natr. arsenicos. (5 mg). Im Verlaufe von 6 Tagen fand er, obwohl die Methode unvollkommen war, 62 Proz. des Arsens im Harn wieder. Er kritisiert aus diesem Anlaß *Heffters* Resultat (8 bis 10 Proz. As im Harn wiedergefunden, s. oben!) als Ergebnis einer schlechten Methode. Es ist indessen klar, daß man eine einzige unbedeutende Arsenikdosis nicht mit Untersuchungen über langdauernde Fütterung mit großen Arsenikmengen auf eine Stufe stellen kann. Das Wertvolle an *Salkowskis* Untersuchung ist die Beobachtung, daß ein großer Teil des einverleibten Arsens (etwa 50 Proz.) im Harn als *organisch gebundenes Arsen* ausgeschieden wird. Nach Fütterung mit arsennucleinsaurem Eisen wurde fast nur organisch gebundenes Arsen mit dem Harn ausgeschieden. Das meiste Arsen ging im Laufe der ersten 2 Tage in den Harn über, aber bis zum zwölften Tage konnten Spuren nachgewiesen werden. Die Fäzes enthielten nur ganz wenig Arsen.

Bloemendal[2]) fand nach Einführung großer Arsenmengen — 20 bis 250 mg täglich — nur unbedeutende Mengen im Harn (etwa $^1/_{40}$ der Totalmenge). In den Fäzes fand er dagegen die Hälfte alles Arsens wieder. Ein interessanter Versuch *Bloemendals* über den Verlauf der Ausscheidung unmittelbar nach Einnahme von 3 mg As_2O_3 (als Sol. Fowleri) bei einem Menschen verdient erwähnt zu werden. 10 Uhr vormittags, am 22. Mai, wurden die 3 mg As_2O_3 per os eingenommen. Von 10 bis 12 Uhr vormittags, am 22. Mai, waren 0,07 mg mit dem Harn ausgeschieden; 12 bis 3 Uhr 0,260 mg; 3 bis 7 Uhr 0,120 mg. Summe am 22. Mai 0,387 mg As_2O_3. Um 2 Uhr am 23. Mai dagegen nur 0,02 mg As_2O_3. Die Arsenausscheidung ist demnach praktisch nach den ersten 7 Stunden beendet.

Nishi[3]) untersuchte die Arsenausscheidung bei einem Patienten, der arsenhaltiges Mineralwasser erhielt. Im Harn fanden sich 53 bis 72 Proz. alles Arsens, in den Fäzes dagegen nur 13 bis 28 Proz. Dies zeigt, daß entweder große Verschiedenheit in den Ausscheidungsverhältnissen bei ver-

[1]) *Salkowski*, diese Zeitschr. **13**, 321, 1908.
[2]) l. c.
[3]) *Nishi*, Beitr. z. Pathol. u. Therapie **2**, 7, 1911.

schiedenen Individuen besteht, oder daß Arsen, in Mineralwasser genommen, sich anders verhält, als wenn es in anderer Form eingenommen wird. Die zuletzt erschienene Arbeit, die hier interessiert, ist eine Beobachtung von *Heffter*[1]). Eine Person war mit etwa 1,5 g Arsenik vergiftet worden. Noch nach 59 Tagen konnte mit der Spiegelmethode Arsen im Harn nachgewiesen werden.

Die angeführte Übersicht zeigt, wie wenig durchgearbeitet die wichtige Frage nach der Ausscheidung von Arsen im Harn in Wirklichkeit ist. Abgesehen von *Almquists* und *Welanders* ausgezeichneter Arbeit sind die meisten Untersuchungen sehr unvollkommen. Soviel dürfte indes mit großer Wahrscheinlichkeit aus dem Untersuchungsmaterial hervorgehen: 1. Verschiedene Versuchsindividuen (Menschen und Tiere) scheinen ziemlich große Unterschiede aufzuweisen, indem einige beträchtlichere Arsenmengen mit dem Harn ausscheiden als andere. 2. Desgleichen — und vielleicht im Zusammenhang damit — zeigt sich, daß bei einigen die Arsenausscheidung lange Zeit andauert, während sie bei anderen ziemlich schnell beendet ist. 3. Bei ein- oder mehrmaliger Aufnahme kleinerer Arsendosen geht das Arsen rasch und in relativ großen Mengen in den Harn über. Bei langdauernder Arsenbehandlung, namentlich wenn die Menge des eingeführten Arsens zu größerer Höhe steigt, wird die Ausscheidung durch den Harn verhältnismäßig unbedeutend. Was die Ausscheidung mit den Fäzes betrifft, so sind die Meinungen der verschiedenen Autoren sehr geteilt. Nebenbei sei bemerkt, daß einzelne Autoren gemeint haben, eine — übrigens unbedeutende — Arsenausscheidung in der Milch nachweisen zu können.

Die Untersuchungen, die wir angestellt haben, erstrecken sich nur auf Menschen — Krankenhauspatienten, die Arsen in Form von Pillen oder Tropfen erhielten. Die Pillen enthielten pro Stück 1 mg As, die Tropfen 1 g As : 200 g Wasser. 12 bis 15 Tropfen 4 mg. Da diese Darreichung nicht für befriedigend erachtet wurde, ging man bei den folgenden Versuchen zur Anwendung einer verdünnten Lösung von Natriumarseniat in Wasser über, wobei die eingenommene Menge leicht festzustellen war. Die unten angeführten Versuchsprotokolle geben die Versuchsresultate wieder. Da diese Untersuchungen angestellt wurden, ehe man noch die Bedeutung der Nahrung für die normale Arsenausscheidung im Harn kannte, wurde dieses Moment nicht vorsätzlich berücksichtigt. Indessen dürfte die Nahrung der Patienten als arsenarm gelten können, da die Untersuchungen in der Vorperiode, ehe die Arsenzufuhr beginnt, einen äußerst geringen (bzw. keinen) Arsengehalt im Harn ergeben (Serie 2 und 3). Auch

[1]) *Heffter*, Vierteljahrsschr.. f. ger. Med. **194**, 1915.

unsere oben referierten Versuche mit Ulcuspatienten stützen diese Auffassung.

In den drei Versuchen erhielten die Patienten 140 mg (Nr. 1), 93 mg (Nr. 2) und 102 mg (Nr. 3) Arsen per os. Davon wurden mit dem Harn ausgeschieden 88,90, 46,14 und 25,25 mg, oder, in Prozenten ausgedrückt, 63,6, 50 und 24,7 Proz. der eingenommenen Menge[1]). Unsere Versuche haben also zunächst die frühere Anschauung bestätigt, daß verschiedene Individuen eine ungleiche Fähigkeit besitzen, das Arsen mit dem Harn auszuscheiden. Dagegen sind die relativen Mengen, die ausgeschieden wurden, bedeutend höher, als die meisten Autoren bisher gefunden haben. Doch finden sich bei *Almquist-Welander* bedeutende Arsenquantitäten im Harn angeführt, die möglicherweise dieselben relativen Werte darstellen wie die unserigen. Indessen sind diese Individuen nur unvollkommen untersucht, und man kann sich daher nicht mit Bestimmtheit über diesen Umstand aussprechen. In den zwei vollständigen Versuchsreihen ist dagegen die absolute Menge des ausgeschiedenen Arsens kleiner als in unseren Versuchen, obwohl die Arsendosis täglich 20 mg betrug, gegenüber der unserigen von 9 mg, und diese 20 mg außerdem direkt ins Blut eingeführt wurden.

Auch in anderer Hinsicht finden sich Unterschiede. So fanden *Almquist* und *Welander*, daß die Arsenausscheidung erst 2 Tage nach der ersten Injektion begann, wohingegen in allen unseren drei Versuchen sich an *demselben Tage, an dem das Arsen zugeführt ist*, eine erhöhte Arsenmenge im Harn findet. In dieser Beziehung erinnern unsere Versuche an *Bloemendals* Beobachtungen.

In besonders guter Übereinstimmung mit dem raschen Auftreten des Arsens im Harn steht der Umstand, daß die absoluten und folglich auch die relativen Mengen des ausgeschiedenen Arsens *synchron mit entsprechenden Änderungen der eingeführten Mengen steigen und fallen*. Am deutlichsten geht dies vielleicht aus Versuch 1 hervor, wo man eine Steigerung der Ausscheidung bemerkt, nachdem die Dosen von 3 auf 6 bis 8 mg erhöht sind. Während der Zeit, wo diese Mengen täglich zugeführt werden, bleibt die Arsenausscheidung einigermaßen konstant. Hört dagegen die Arsenzufuhr auf, so sinkt die Ausscheidung auf ein Minimum, um von neuem rasch anzusteigen, wenn neue Arsenzufuhr beginnt. Die beiden anderen Versuche stimmen in allem Wesent-

[1]) Ein Vergleich zwischen den Versuchen mit reinen Arsenlösungen und den Fischversuchen läßt ein ungleiches Verhalten erkennen, insofern bei den letzteren die Ausscheidung durch den Harn bis auf etwa 100 Proz. hinaufging. Indessen war die mit dem Fisch aufgenommene Arsenmenge so viel geringer, daß ein direkter Vergleich nicht ohne weiteres stattfinden kann. Leider konnten keine Versuche mit entsprechend kleinen Mengen Arseniklösung angestellt werden, was zweifellos von großem Interesse wäre.

Harnproben von Patienten, die Arsen in Form von Pillen oder Tropfen erhalten haben.

			Harnmenge in ccm		Arsengehalt in Milligramm		
			Tagesmenge	Probe	Eingenommen	Ausgeschieden In der Probe	Ausgeschieden Auf die Tagesmenge
	1914						
E. J.	21. V.	1 Pille	730	500		0	0
	22. V.	3 Pillen	1475	500		0,34	0,02
	24. V.	6 „	1360	200		0,10	0,71
	25. V.	6 „	1270	200		0,11	0,71
	26. V.	6 „	900	200		0,18	0,80
	27. V.	6 „	2780	200		0,16	2,28
	28. V.	6 „	2050	200		0,17	1,72
	29. V.	6 „	2400	200		0,16	1,92
	30. V.	24 Tropfen*)	1780	200		0,35	3,13
	31. V.	24 „	1260	200		0,68	4,25
	1. VI.	24 „	790	200		0,78	3,08
	2. VI.	24 „	2050	200		0,65	6,66
	3. VI.	24 „	1450	200		0,81	5,87
	4. VI.	24 „	1850	200		0,49	4,49
	5. VI.	24 „	1720	200		0,70	6,02
	6. VI.	24 „	2000	200		0,62	6,15
	7. VI.	24 „	1380	200		0,91	6,28
	8. VI.**)	24 „	1970	200		0,54	5,32
	13. VI.	kein Arsen	2000	200		0,42	4,15
	14. VI.	„ „	2150	200		0,32	3,44
	15. VI.	„ „	2060	200		0,18	1,90
	16. VI.	„ „	2400	200		0,07	0,80
	17. VI.	„ „	2420	200		0,11 }	1,38
	17. VI.	„ „	2420	200		0,12 }	
	18. VI.	„ „	2060	200		0,07	0,71
	19. VI.	24 Tropfen	2180	200		0,19	2,10
	20. VI.	24 „	2070	200		0,46	4,71
	21. VI.	24 „	1300	200		0,70	4,52
	22. VI.	24 „	2200	200		0,38	4,73

In Summe eingenommen etwa 140 mg — In Summe ausgeschieden 88,90 = 63,6 Proz.

*) = 6 bis 8 mg As. — **) 9. bis 12. Juni erhielt Patient 24 Tropfen pro Tag. Die Untersuchung wurde wegen Krankheit nicht ausgeführt.

lichen damit überein. Und die gefundenen Werte dürfen für um so zuverlässiger gelten, als überall Doppelanalysen vorliegen.

Diese Verhältnisse lassen sich am deutlichsten aus der graphischen Darstellung erkennen (Abb. 7, 8, 9). Man kann daher den Schluß als bewiesen ansehen, daß sich der Organismus sehr rasch von einem gewissen, relativ großen Teil des Arsens durch den Harn befreit. Hört die Arsenzufuhr auf, so sinkt sofort die Ausscheidung, auch wenn die gesamte Arsenmenge bei weitem noch nicht entfernt ist. Es wäre nun die Möglichkeit denkbar, daß der Rest des Arsens nicht resorbiert, sondern mit den Fäzes entleert würde. Mehrere der zitierten Autoren haben gemeint, ein solches Verhalten nachweisen zu können. Aber andererseits läßt sich auch denken, daß das fehlende Arsen im Orga-

Harnproben von Patienten, die Arsen in Form von Lösungen arseniger Säure erhalten haben, die auf 50 ccm Wasser 1, 2, 3 mg Arsen enthalten.

1915		Harnmenge in ccm		Arsengehalt in Milligramm		
		Tagesmenge	Probe	Eingenommen	Ausgeschieden: In der Probe	Ausgeschieden: Auf die Tagesmenge
E. J. 20. III.		1075	400	—	0,02	0,05
21. III.		1600	400	—	0,03	0,13
22. III.		950	400	—	0,10	0,24
23. III.		630	300	—	0,02	0,05
24. III.	3 . 1 mg As	930	400	3,0	0,06	0,14
25. III.	3 . 1 „ „	1420	400	3,0	0,18	0,64
26. III.	3 . 1 „ „	1280	400	3,0	0,41	1,31
27. III.	3 . 2 „ „	1420	400	6,0	0,39	1,37
28. III.	3 . 2 „ „	1550	200	6,0	0,27	1,99
28. III.	3 . 2 „ „	—	200	6,0	0,26	
29. III.	3 . 2 „ „	1140	200	6,0	0,32	1,84
29. III.	3 . 2 „ „	—	200	6,0	0,33	
30. III.	3 . 3 „ „	1360	200	9,0	0,49	3,30
30. III.	3 . 3 „ „	—	200	9,0	0,48	
31. III.	3 . 3 „ „	1050	200	9,0	0,67	3,52
31. III.	3 . 3 „ „	—	200	9,0	0,68	
1. IV.	3 . 3 „ „	1580	200	9,0	0,62	4,82
1. IV.	3 . 3 „ „	—	200	9,0	0,60	
2. IV.	kein Arsen	960	200	—	0,96	4,61
2. IV.	„ „	—	200	—	0,96	
3. IV.	„ „	1120	200	—	0,57	3,16
4. IV.	„ „	1620	200	—	0,32	2,49
4. IV.	„ „	—	200	—	0,30	
5. IV.	„ „	920	200	—	0,45	2,09
5. IV.	„ „	—	200	—	0,46	
6. IV.	„ „	1120	200	—	0,24	1.32
6. IV.	„ „	—	200	—	0,23	
7. IV.	„ „	1110	200	—	0,24	1,34
7. IV.	„ „	—	200	—	0,25	
8. IV.	„ „	1450	200	—	0,17	1,13
8. IV.	„ „	—	200	—	0,14	
9. IV.	„ „	1130	200	—	0,12	0.61
9. IV.	„ „	—	200	—	0,10	
In Summe eingenommen 93 mg		In Summe ausgeschieden 46,14 = 50 Proz.				

nismus aufgespeichert würde oder, wie *Heffter* meint, zum großen Teil im Blute zirkuliere. Die letztere Auffassung scheint einige Wahrscheinlichkeit für sich zu haben (und braucht ja die Möglichkeit nicht auszuschließen, daß ein *Teil* des Arsens an verschiedenen Orten abgelagert wird).

Die Ausscheidungskurve scheint nämlich dafür zu sprechen, daß die Nieren eine aktive Rolle bei der Ausscheidung spielen. Jede Steigerung der Arsenmenge im Blute reizt die Nieren zu aktiver Ausscheidung von Arsen in gleicher Art wie viele andere fremde Stoffe. Und je mehr

Harnproben von Patienten,
die Arsen in Form von Lösungen arseniger Säure erhielten,
50 ccm Lösung 1, 2, 3 mg Arsen enthaltend.

	1915		Harnmenge in ccm		Arsengehalt in Milligramm	Ausgeschieden	
			Tagesmenge	Probe	Eingenommen	In der Probe	Auf die Tagesmenge
A. N.	8. IV.	kein Arsen	450	200	—	0,00	0,00
	9. IV.	„ „	500	200	—	0,02	0,05
	10. IV.	„ „	820	200	—	0,00	0,00
	12. IV.	„ „	590	200	—	0,00	0,00
	13. IV.	3 . 1 mg As	1020	200	3,0	0,08	0,33
	13. IV.	3 . 1 „ „	—	200	3,0	0,05	
	14. IV.	3 . 1 „ „	950	200	3,0	0,10	0,52
	14. IV.	3 . 1 „ „	—	200	3,0	0,12	
	15. IV.	3 . 1 „ „	740	200	3,0	0,20	0,79
	15. IV.	3 . 1 „ „	—	200	3,0	0,23	
	16. IV.	3 . 2 „ „	1040	200	6,0	0,19	1,03
	16. IV.	3 . 2 „ „	—	200	6,0	0,21	
	17. IV.	3 . 2 „ „	1400	200	6,0	0,24	1,61
	18. IV.	3 . 2 „ „	1000	200	6,0	0,38	1,93
	18. IV.	3 . 2 „ „	—	200	6,0	0,39	
	19. IV.	3 . 3 „ „	600	200	9,0	0,75	2,20
	19. IV.	3 . 3 „ „	—	200	9,0	0,72	
	20. IV.	3 . 3 „ „	800	200	9,0	1,12	4,42
	20. IV.	3 . 3 „ „	—	200	9,0	1,10	
	21. IV.	3 . 3 „ „	500	200	9,0	0,84	2,12
	21. IV.	3 . 3 „ „	—	200	9,0	0,86	
	22. IV.	kein Arsen	900	200	—	0,76	3,40
	22. IV.	„ „	—	200	—	0,75	
	23. IV.	„ „	700	200	—	0,69	2,40
	23. IV.	„ „	—	200	—	0,68	
	24. IV.	„ „	825	200	—	0,45	1,86
	24. IV.	„ „	—	200	—	0,46	
	25. IV.	„ „	1100	200	—	0,29	1,63
	25. IV.	„ „	—	200	—	0,30	
	26. IV.	„ „	510	200	—	0,39	1,02
	26. IV.	„ „	—	200	—	0,42	

In Summe eingenommen 102 mg — In Summe ausgeschieden 25,2 = 24,7 Proz.

Arsen eingeführt wird, je höher also die Konzentration im Blute *steigt*, um so intensiver wird die Ausscheidungsarbeit der Nieren. Hört die Zufuhr auf, so hört sofort die Konzentrationserhöhung im Blute auf (die der resorbierten Arsenmenge minus der ausgeschiedenen oder in den Geweben deponierten Menge entspricht). Infolgedessen verschwindet das Reizmoment für die Nieren ganz oder teilweise mit der Folge, daß die ausgeschiedene Quantität sich sofort beträchtlich vermindert. Dies geschieht auch, wenn das Blut noch weiterhin relativ bedeutende Arsenmengen enthält, wenn diese nur gegen vorher eine

Verringerung erfahren haben. Eine andere Folge hiervon ist, daß der Organismus lange Zeit braucht, um sich der letzten Reste des zugeführten Arsens zu entledigen. Wie lange die Arsenausscheidung nach beendeter Zufuhr überhaupt andauert, geht aus unseren Versuchen

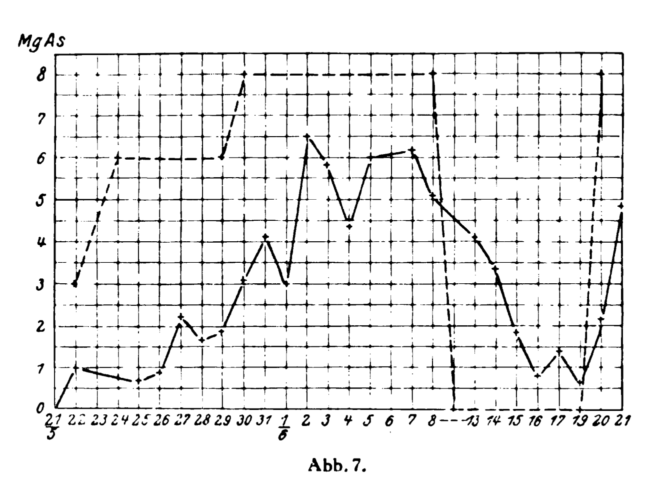


Abb. 7.

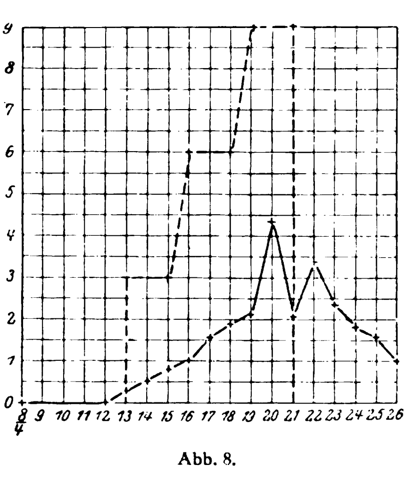


Abb. 8.

——— As mit dem Harn ausgeschieden.
- - - - - Aufgenommene Arsenmenge.

nicht hervor, da sie aus äußeren Gründen kurze Zeit nach beendeter Arsenzufuhr abgeschlossen wurden. In *Almquists* und *Welanders* Versuchen wurde Arsen im Harn Monate nach Aufhören der Injektionen nachgewiesen. Hier ist indessen keine Rücksicht auf den normalen Arsengehalt des Harns genommen, was vielleicht den Wert der Analysen

etwas verringert. Doch sind die absoluten Mengen in einzelnen Fällen weit größer als der normale Arsengehalt (z. B. Fall 17, 3,7 mg As_2O_3 15 Tage nach beendeter Behandlung).

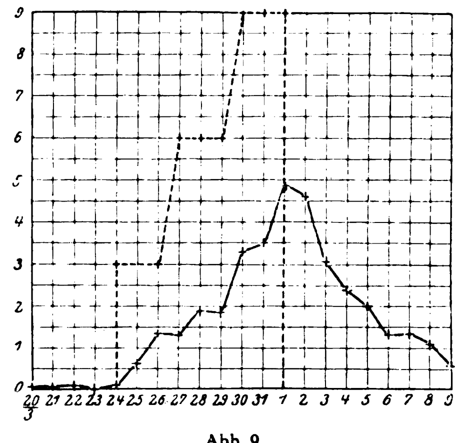


Abb. 9.

Die angeführte Hypothese über die Rolle der Nieren bei der Ausscheidung stimmt auch sehr wohl mit den nachgewiesenen individuellen Unterschieden in der Ausscheidung überein. Bekanntlich sind die Nieren bei verschiedenen Individuen für chemische „Reizmittel" sehr verschieden reizbar. So scheiden gewisse Personen Zucker im Harn aus, wenn die Blutzuckerkonzentration nur ganz unbedeutend steigt. Andere wieder können verhältnismäßig beträchtliche Steigerungen der Blutzuckerkonzentration zeigen, ohne daß sich Spuren von Zucker im Harn nachweisen lassen. Ferner können die Nieren geübt werden, Zucker zurückzuhalten, so daß der Zucker nicht mehr als Reizmittel fungiert, auch wenn er längere Zeit auf einer größeren konstanten Höhe stehen bleibt. In gleicher Weise verhalten sich die Nieren gegenüber zahlreichen anderen Stoffen, sowohl solchen, die konstant im Blute vorhanden sind, wie auch ganz fremden Stoffen.

4. Die Verteilung des Arsens im Organismus.

Aus den Untersuchungen über die quantitativen Verhältnisse bei der Arsenausscheidung ergibt sich mit großer Wahrscheinlichkeit, daß ein gewisser Teil des Arsens im Körper zurückgehalten und in den Organen abgelagert wird, wo es später langsam frei gemacht wird, um in den Harn überzugehen. Namentlich dürfte dies bei einer länger dauernden Zufuhr von Arsen der Fall sein. Die zahlreichen hierauf gerichteten Untersuchungen, die publiziert worden sind, bestätigen

diese Auffassung. Die Untersuchungen sind teils an Menschen angestellt, die entweder tödlich arsenikvergiftet waren oder sich einer Arsenikbehandlung unterzogen, teils sind sie an Versuchstieren vorgenommen worden. Da indes die Bestimmung des Arsens in Organen mit großen Schwierigkeiten verbunden ist, sind die quantitativen Angaben somit an und für sich weniger exakt. Größere Bedeutung kann man dagegen der relativen Verteilung zwischen den verschiedenen Organen beimessen, wenn auch hier sicherlich große Fehlerquellen vorliegen. Es ist daher wichtig, solche Untersuchungen mit einer besseren Methode zu wiederholen. Aus äußeren Gründen hat dies jedoch hier nicht in dem wünschenswerten Umfang geschehen können. Was solchen Untersuchungen ihren besonderen Wert verleiht, ist vor allem die Rücksicht auf die große medizinische und toxikologische Bedeutung des Arsens. Das toxikologische Interesse richtet sich auf die Ablagerung des Arsens in Leber, Nieren und Nervensystem, da, abgesehen vom Verdauungskanal, besonders diese Organe bei der Arsenvergiftung angegriffen werden. Die Leber (der Verdauungskanal und die Nieren) erkrankt am häufigsten bei akuten Vergiftungen mit großen Dosen, während das Nervensystem bei chronischer Arsenvergiftung am meisten affiziert wird[1]). Die experimentellen und analytischen Untersuchungen über die Verteilung des Arsens im Körper bei Vergiftung haben ebenfalls die Richtigkeit dieser klinischen Erfahrung bestätigt.

Schon *Orfila* gab 1839 folgende Verteilung für eingeführtes Arsen an: Leber, Milz, Herz, Nieren, Lungen — in abnehmender Menge von der Leber an gerechnet. *Scolosuboff*[2]) stellte 1875 mit Hilfe von *Gautiers* Methode umfassende Tierversuche an über die Lokalisation des Arsens nach rascher und langsamer Vergiftung. Er fand, daß das Arsen immer, wenn es in leicht löslicher Form eingenommen wird, im Gehirn, Rückenmark und Nerven angehäuft wird. Seine Werte, berechnet auf 100 g Substanz, waren für die Leber 2,7 mg, für das Gehirn und Rückenmark dagegen 8,9 und 9,3 mg. Die Muskeln dagegen enthielten nur Spuren von Arsen. Wurde das Arsen dagegen in unlöslicher Form genommen, konnte es nur spurenweise im Gehirn nachgewiesen werden. *Hamberg*[3]) teilte 1879 das Resultat seiner Analysen von einem Hunde mit, der 20 Tage 15 bis 20 Tropfen einer Arsenlösung (1 g As_2O_3 : 20 ccm H_2O) erhielt, und die darauf folgenden 10 Tage die Hälfte dieser Dosis. Während des Lebens ließen sich im Harne nur Spuren von Arsen nachweisen. Auf 100 g berechnet, enthielt dagegen die Leber 13,6 mg, die Niere 13,0 mg, das Gehirn 0,3 mg, das Rückenmark 0,46 mg, Knochen und Muskeln 0,14 mg. Herz, Lungen und Blut enthielten sehr wenig Arsen. *Hamberg* war der Ansicht, daß der größte Teil des Arsens aus dem Organismus entfernt worden sei, solange das Tier lebte. Im Gegen-

[1]) Es gibt indes eine Form der akuten Arsenvergiftung — die paralytische —, bei der die Hauptsymptome vor allem auf das Zentralnervensystem zu beziehen sind.

[2]) Bull. soc. chim. Paris **24**, 124, 1875; Ann. d'hygiène publ. 1876, S. 153.

[3]) Sv. L. förhandl.

satz zu *Scolosuboff* kann *Hamberg* als der erste betrachtet werden, der eine annähernd richtige Darstellung von den Lokalisationsverhältnissen geliefert hat. *Ludwig*[1]) stellte darauf eine eingehende Untersuchung über die Arsenverteilung im Körper eines Selbstmörders an. Ferner analysierte er Organe von Hunden nach akuter und chronischer Arsenvergiftung. 1440 g Menschenleber enthielten 0,1315 g NH_4MgAsO_4. Dieselbe Menge Hirn enthielt dagegen nur 0,001 59. 144 g Niere zeigten einen Arsengehalt von 0,0195 g. Knochen zeigten deutliche Spuren von Arsen. Hieraus geht hervor, daß bei einer akuten Arsenvergiftung das meiste Arsen in die Leber aufgenommen wird. während in den übrigen Organen, unter denen besonders das Nervensystem hervorzuheben ist, nur kleinere Spuren vorkommen. *Bergeron, Delens* und *L'Hôte*[2]) bestätigten kurze Zeit danach *Ludwigs* Beobachtungen. Bei der Analyse der Organe einer arsenvergifteten Person fanden sie pro 100 g Leber 1,4 mg As, auf 100 g Gehirn nur 0,2 mg. Niere enthielt die doppelte Menge. Im Jahre 1883 machte der Italiener *Guareschi*[3]) die gleiche Beobachtung. Kurz vorher teilten *Johnsson* und *Chittenden*[4]) zahlreiche Analysen von Organen einer arsenikhaltigen Leiche mit, die 1½ Jahre in der Erde gelegen hatte. Hier sind die Fehlerquellen so groß, daß die Werte kein Interesse haben. Bei Versuchen an Tieren fanden *Chittenden* und *Smith*[5]) große Mengen Arsen in der Leber, aber nur Spuren in Nieren, Muskeln und Gehirn. *Strassmann*[6]) dagegen fand 1893 eine gleichmäßige Verteilung des Arsens in allen Organen. Die zahlreichsten Untersuchungen hierüber sind 1897 von *Lesser*[7]) veröffentlicht worden, der Analysen über die Arsenmenge in Organen von nicht weniger als 49 arsenikvergifteten Personen mitteilte. In allen Fällen enthielt die Leber das meiste Arsen. Das Gehirn war in einem Falle arsenfrei, in den übrigen fanden sich Spuren von Arsen bis herauf zu 2 bis 3 mg. Alle Fälle können als akute Arsenvergiftungen betrachtet werden. Im Jahre 1905 veröffentlichte *Denigès*[8]) mehrere recht bemerkenswerte Arbeiten über dieses Problem. Bei Untersuchung von Leichen arsenvergifteter Personen (drei Fälle) fand *Denigès* große Mengen Arsen in der Leber und den Nieren. Dagegen war das Nervensystem sehr arm an Arsen. In den Knochen wurde eine nicht ganz unbeträchtliche Arsenquantität nachgewiesen. Die Nägel waren ziemlich stark arsenhaltig. Ebenso das Haar. *Denigès* ist der Meinung, daß die Leber am meisten, das Nervensystem am wenigsten Arsen enthalte. *Denigès* Untersuchungen an vergifteten Kaninchen und Hunden sind auch von einem gewissen Interesse. Hund 1 erhielt im Laufe von 2 Tagen subkutan 0,14 + 0,18 g As_2O_3. Er starb 7 Stunden nach der letzten Dosis (47 Stunden nach der ersten Injektion). Mit dem Harn waren bis dahin 39 mg As ausgeschieden. Hund 2 erhielt 1,5 g As_2O_3 per os. Er starb nach 2½ Stunden. Berechnet pro Kilogramm war die Arsenmenge in Milligrammen bei Nr. 1 in der Leber 62 mg, bei Nr. 2 118 mg. Hirn und Rückenmark bei Nr. 1

---

[1]) *Ludwig*, Zeitschr. f. analyt. Chem. **20**, 608, 1881.
[2]) *Bergerons, Delens* und *L'Hôte*, Ann. d'hygiène publ. (3) **3**, 23, 1880.
[3]) *Guareschi*, Jahresber. d. Tierchem. 1883, S. 94.
[4]) *Johnsson* und *Chittenden*, Amer. chem. Journ. **2**, 5, 1880.
[5]) *Chittenden* und *Smith*, Jahresber. d. Tierchem. 1885, S. 120.
[6]) *Strassmann*, Apotheker-Ztg. 8, 177, 1893; Zeitschr. f. analyt. Chem. **28**, 518, 1893.
[7]) *Lesser*, Vierteljahresber. f. ger. Med. **15**, 27, 1897.
[8]) *Denigès*, Ann. chim. et phys. (8) **5**, 559.

1,4 mg, bei Nr. 2 2,3 mg. Zwei Kaninchen erhielten im Laufe von 9 Tagen As_2O_3 in steigenden Dosen von 2,5 bis 5 mg. Bei Nr. 1 enthielt die Leber 79 mg, Gehirn und Rückenmark 1,9 mg. Für Nr. 2 waren die entsprechenden Zahlen 77 mg und 2,2 mg. Die Knochensubstanz bei den vier Tieren enthielt von 1 mg bis 1,5 mg As.

In einem Falle von akuter Arsenvergiftung (der Tod trat 3 Tage nach der Vergiftung ein) fand *Garnier*[1]) im Gehirn 0,25 mg und in der Leber 30 mg. *Ekeley*[2]) fand in der Leiche einer arsenvergifteten Person ähnliche Verhältnisse: in der Leber 10 mg, im Gehirn 0,12 mg. Dagegen enthielten in diesem Falle die Nieren mehr Arsen als die Leber, nämlich 25 mg. Eine interessante Mitteilung über zwei Fälle von Arsenvergiftung liefert *Guscard*[3]). In dem einen Falle starb das Individuum 22 Stunden nach der Aufnahme von Arsenik, in dem zweiten erst nach 9 Tagen. In diesem letzteren Falle enthielt das Gehirn 50mal mehr Arsen als im ersten. *Dutscher* und *Stul*[4]) gaben zwei Hunden 35 mg Arsenik. Der eine Hund wurde nach 24 Stunden getötet, der andere nach 20 Tagen. In den Exkrementen des letzteren wurde kein Arsen angetroffen, dagegen wurden 71 Proz. mit dem Harn ausgeschieden. Von den Organen des Hundes, der nach 24 Stunden getötet wurde, enthielt das Blut das meiste Arsen. Bei dem zweiten Hunde befand sich die größte Ablagerung von Arsen in den Muskeln, der Leber, den Eingeweiden und dem Nervensystem. Die letzte Untersuchung über die Arsenverteilung in den Organen bei chronischer Arsenvergiftung (6 Wochen) ist von *Underhill*[5]) veröffentlicht. Auf 100 g Substanz fanden sich in der Leber 16,7 mg, in den Nieren 4,2 mg, im Rückenmark 3,6 mg und im Gehirn 1,4 mg. In Knochen und Haaren kamen nur Spuren von Arsen vor. In diesem Falle enthielt also das Gehirn keine größeren Arsenmengen, als sie sich oft bei akuter Vergiftung finden. Im Rückenmark fand sich dagegen etwas mehr, als sonst im allgemeinen nachgewiesen worden ist.

Zahlreiche Forscher, unter denen *Schiff, Ricei, Scholz, Denigès, Knecht* und *Dearden, Bloemendal, Heffter* und *Thomsen* erwähnt sein mögen, haben den Übergang des Arsens in Haare (und Nägel) untersucht. Normalerweise enthält das Haar kein nachweisbares Arsen. Nach Zufuhr von Arsen findet man einen Übergang in diese Organe, Haut, Nägel und Haar, von keineswegs unbedeutenden Arsenmengen. Natürlich läßt sich Arsen in nennenswerten Mengen hier nicht vor Ablauf einiger Zeit oder einiger Monate nachweisen. Daher ist, namentlich bei chronischer Vergiftung, Arsen hier nachweisbar. Auf diesem Wege befreit sich also der Organismus von einem Teil des Arsens. Die gefundenen Mengen — etwa 2 mg As auf 100 g Haare — sind indes so klein, daß sie keine wesentliche Rolle bei der Ausscheidung als solcher spielen.

Die Untersuchungen, die wir ausgeführt haben, umfassen nur Versuche mit Tieren, nämlich Kaninchen, die mit Arsen vergiftet wurden teils durch Inhalation von Arsenstaub mit der Luft, teils per os, teils durch Einreiben in die Haut. Leider sind diese Untersuchungen nicht in so großem Umfang ausgeführt worden, wie es wünschenswert gewesen

[1]) *Garnier*, C. r. de l'acad. des sciences **67**, 738, 1909.
[2]) *Ekeley*, Journ. Amer. Chem. Soc. **35**, 483, 1913.
[3]) *Guscard*, Journ. pharm. et chim. **77**, 329, 1913.
[4]) *Dutscher* und *Stul*, Journ. Amer. Chem. Soc. **36**, 770, 1914.
[5]) *Underhill*, Journ. of biol. Chemistry **19**, 515, 1915.

wäre. Dazu kommt der bedauerliche Mangel, daß keine Kontrolluntersuchungen an Organen normaler Tiere angestellt werden konnten, weil die Untersuchungen aus äußeren Gründen, zeitiger als beabsichtigt war, abgebrochen werden mußten. Es ergaben sich jedoch aus diesen Versuchen recht interessante Erfahrungen, über die unten berichtet wird.

Nr. 1. Kaninchen wurde 78 Tage im Käfig gehalten mit geringem Arsenstaub in der Luft (0,106 bis 0,296 mg As pro 500 Liter Luft). Das Körpergewicht stieg dabei von 1370 auf 1600 g.

Leber	0,08 mg As	= 61 Proz.
Nieren	0,04 „ „	= 32 „
Lungen	0,01 „ „	= 7 „
Gehirn und Rückenmark	0 „ „	= 0 „

Nr. 2. Blieb 49 Tage im Käfig mit reichlicher Menge Arsenstaub in der Luft (0,776 mg As pro 500 Liter Luft). Das Körpergewicht sank dabei von 1120 auf 1000 g.

Leber	0,42 mg As	= 67,2 Proz.
Nieren	0,12 „ „	= 18,9 „
Lungen	0,08 „ „	= 12,7 „
Gehirn und Rückenmark	0,008 „ „	= 1,2 „

Nr. 3. Erhielt 0,5 g Kaisergrün per os jeden Tag während 59 Tagen. Das Körpergewicht sank von 1370 auf 1000 g.

Leber	0,31 mg As	= 53,3 Proz.
Nieren	0,03 „ „	= 3,6 „
Lungen	0,03 „ „	= 3,6 „
Gehirn und Rückenmark	0,07 „ „	= 11,9 „
15 g Knochen	0,15 „ „	= 28,6 „

Nr. 4. 1 g 30proz. As_2O_3-Lanolinsalbe auf dem Rücken eingerieben. Tod nach 8 Tagen. Körpergewicht 3250 bis 3200 g.

Leber	1,74 mg As	= 80 Proz.
Nieren	0,37 „ „	= 17 „
Lungen	0,08 „ „	= 3 „
Gehirn und Rückenmark	0 „ „	= 0 „

Von den vier Versuchsreihen sind drei chronische Arsenvergiftungen und eine stellt eine akute dar. Im ganzen stimmen die Resultate gut miteinander überein. Ebenso besteht gute Übereinstimmung mit den Ergebnissen der oben zitierten Autoren. Zunächst ist darauf hinzuweisen, daß der Unterschied im Arsengehalt des Nervensystems bei der chronischen und akuten Vergiftung sehr schlagend ist. Obgleich im letzten Versuch die aufgenommenen Arsenmengen verhältnismäßig viel größer sind als in einer der übrigen Serien, findet sich keine Spur von Arsen im Nervensystem. Dies stimmt also vollständig mit dem Resultat der oben erwähnten Autoren überein, daß *das Arsen nur oder vorwiegend allein bei chronischer Vergiftung im Nervensystem abgelagert wird.* Unsere Versuche zeigen außerdem, daß die absoluten

und relativen Arsenmengen, die im Nervensystem abgelagert werden, sehr unbedeutend sind. Jedoch war die relative Menge in der Serie 3 ziemlich groß. Wie die meisten früheren Forscher sind auch wir zu dem Ergebnis gekommen, daß der überwiegende Teil des abgelagerten Arsens in der Leber deponiert wird. Daß wir die größte relative Menge Arsen bei der akuten Vergiftung nachgewiesen haben, muß darum besonders hervorgehoben werden, weil das Arsen in diesem Falle durch Resorption von der Haut aus eingeführt wurde. Die Leber hat also in diesem Falle nicht, wie bei Resorption vom Darme aus, eine verhältnismäßig konzentrierte Arsenlösung erhalten, hat aber trotzdem eine relativ große Arsenmenge zurückhalten können. Unter den gleichen Bedingungen wie die übrigen Organe hat sie also mehr als diese aufgenommen. Auch wenn man den Umstand in Betracht zieht, daß das Gewicht der Leber weit größer ist als das der anderen Organe, so hat sie doch sicher relativ mehr Arsen aufgenommen als z. B. die Lungen. Dagegen steht die Leber, was die relative Arsenmenge betrifft, entschieden gegen die Nieren zurück, deren Gewicht etwa auf ein Zehntel des Lebergewichts veranschlagt werden kann. In den Versuchen Nr. 1, 2 und 4 ist nämlich das Verhältnis zwischen der von der Leber und der von den Nieren aufgenommenen Arsenmenge wie 2 : 1, 4 : 1, 4 : 1. Nur in Versuch 3 findet man das Verhältnis 17 : 1. In diesem Versuch enthielten die Nieren ungewöhnlich wenig Arsen. Wenn man annimmt, daß die von uns untersuchten Organe die arsenreichsten sind, so steht die Niere bezüglich des absoluten Arsengehaltes an zweiter und bezüglich des relativen Arsengehaltes an erster Stelle unter den Organen des Körpers.

Leider ist das Knochensystem nur in einem einzigen Falle untersucht worden. Die hierbei nachgewiesenen Mengen sind überraschend groß und stehen in bestimmtem Gegensatz zu früheren Untersuchungsresultaten, wo man nur Spuren von Arsen nachgewiesen hat. Die vereinzelte Untersuchung sagt nur wenig, verdient aber doch Aufmerksamkeit. Wenn wir hier ein wichtiges Arsendepot haben, ist dies von Interesse, teils weil das Knochensystem ja in besonders hohem Grade von Arsen beeinflußt wird, teils weil wir dann hier eine Parallele zu dem mit dem Arsen verwandten Phosphor hätten, der ebenfalls im Knochensystem abgelagert wird.

Untersuchungen über die Metamorphose der Insekten.

II. Mitteilung:

Ein Respirationsapparat zur Untersuchung des Gaswechsels kleiner Tiere.

Von

Józef Heller.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität Lwów.)

(Eingegangen am 18. September 1925.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

I.

Im Verlauf unserer Untersuchungen über den Stoffwechsel der Insekten machte sich das Bedürfnis nach einem Apparat zur Bestimmung des respiratorischen Gaswechsels geltend, an den eine Reihe von Anforderungen gestellt werden könnte, die von den bisherigen Apparaten nicht erfüllt werden. Der Apparat mußte vor allem gestatten, den Gaswechsel einzelner Individuen zu messen, deren Sauerstoffverbrauch in so weiten Grenzen schwankt, wie z. B. der einer sich verpuppenden Deilephilaraupe (60 ccm pro 24 Stunden) und desselben Individuums nach der Verpuppung (unter Umständen 0,5 ccm pro 24 Stunden). Er mußte ferner gestatten, die einzelnen Größen des Stoffwechsels — Sauerstoffaufnahme, Kohlensäureabgabe, Wasserabgabe — unabhängig voneinander zu bestimmen, da an unseren Versuchsobjekten keine Voraussetzungen über das Verhältnis dieser Größen gemacht werden konnten. Es war ferner notwendig, die Versuche sowohl in kurzen als in langen Versuchsperioden führen zu können.

Diesen Anforderungen entspricht keiner der bis jetzt konstruierten Respirationsapparate.

Die Apparate vom Mikrorespirometertypus — der Apparat von *Winterstein*[1]), die Apparate von *Krogh*[2]), *N. K. Adam*[3]), *Krajnik*[4]). Respirationsgefäßchen in Verbindung mit *Barcroft*schen Manometern[5]) — eignen sich

---

[1]) *H. Winterstein*, diese Zeitschr. **46**, 440, 1912.

[2]) *A. Krogh*, ebendaselbst **62**, 266, 1914.

[3]) *N. K. Adam*, Biochem. Journ. **14**, 679, 1920.

[4]) *B. Krajnik*, diese Zeitschr. **130**, 286, 1922.

[5]) *J. K. Parnas*, Methoden zur Beeinflussung der tierischen Entwicklung durch Gase usw. in Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethod., Abt. V, Teil 3A, S. 666ff.

für die Bestimmung des respiratorischen Gaswechsels kleiner oder schwach atmender Objekte[1]). Die Apparate von *Haldane*[2]), *Fridericia*[3]), *Krzywanek*[4]) und *Cohnheim*[5]) sind für größere Tiere (kleine Säugetiere) bestimmt und würden den schwachen Gasumsatz nicht zu bestimmen gestatten. Der Apparat von *Białaszewicz*[6]), der für kleine Wirbellose bestimmt ist, mißt unmittelbar den Sauerstoffverbrauch durch Druckabnahme und die Kohlensäure durch Titration und scheint durch die Verwendung von Quecksilbermanometern, Fehlen von Kompensation und Einstellung auf eine bestimmte Versuchsanordnung wenig empfindlich, wenig geschmeidig und rechnerisch kompliziert.

Unser Apparat, der sich während der Arbeit allmählich entwickelte und vervollkommnete, beruht auf folgendem Prinzip:

---

[1]) Die Verwendung von Respirationsgläschen mit Manometern, die heute so vielfach angewandt wird, ist zweifellos außerordentlich bequem und einfach, kann aber bei stark atmenden Objekten unter Umständen zu den schwersten Fehlern führen. *Krogh* hat bekanntlich die Forderung begründet (diese Zeitschr. **62**, 274), daß bei dieser Versuchsanordnung und Verwendung lebender Tiere das Respirationsglas mindestens 200 mal größer an Volumen sein muß, als das untersuchte Objekt. Da solche Respirationsgefäße bei einem Volumen von über 200 ccm unhandlich werden, so liegt bei 1 g Tier die äußere Grenze der Verwendbarkeit dieser einfachen Respirationsapparate. Es sei bemerkt, daß in unserem Apparat, trotz der mechanischen Ventilation, die Größe der Respirationskammer so gehalten ist, daß sie der Forderung von *Krogh* entspricht. *Fink* z. B. (Journ. of Gener. Physiology, 7, 1925) mißt die Atmung ziemlich großer Insektenlarven und -puppen in Mikrorespirometern und gelangt dabei zu recht paradoxen Werten für den Respirationsquotienten (0,4 z. B.). Diese Werte können dadurch vorgetäuscht werden, daß bei erhöhtem Druck der Kohlensäure der Stoffwechsel und der Sauerstoffverbrauch des Objektes erhöht wird, was nach neueren Erfahrungen an Menschen durchaus plausibel erscheint. Bewirkt doch das Einatmen einer kohlensäurereichen Luft das Verschwinden der Milchsäure aus dem Blute (*Anrep* und *Cannan*, Journ. of Phys. **59**, 244, 1923). Die Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs durch erhöhten Kohlensäuredruck täuscht aber bei der von *Fink* angewandten Versuchsanordnung von *Krogh* einen zu niedrigen Respirationsquotienten vor. Ich selbst habe bei Versuchen, den Respirationsquotienten von stark atmenden Deilephilapuppen in der genannten Versuchsanordnung zu bestimmen, Resultate bekommen, bei welchen die scheinbare Größe Vol. O_2 —Vol. CO_2 im Versuch ohne CO_2-Absorption größer war als der gesamte Sauerstoffverbrauch im Versuch mit Kohlensäureabsorption. Man kann in solchen Versuchen je nach der Dauer der Respirationsstärke und der Größe der Respirationsgefäße zu allen möglichen Respirationsquotienten unterhalb der physiologisch möglichen gelangen, den schönsten Stützen für die Lehre von der tierischen Umwandlung von Fett in Kohlehydrate.

[2]) *J. Haldane*, Journ. of Physiol. **13**, 419, 1892.

[3]) *L. S. Fridericia*, diese Zeitschr. **54**, 92, 1913.

[4]) *Fr. W. Krzywanek*, ebendaselbst **135**, 506, 1922.

[5]) *O. Cohnheim*, Zeitschr. f. phys. Chem. **69**, 89, 1910; siehe auch *A. Joel*, ebendaselbst **107**, 231, 1919.

[6]) *K. Białaszewicz*, Sprawozdania Tow. Nauk. Warsz. **9**, 991, 1916 (polnisch mit französischem Résumé).

Die Respirationskammer von ungefähr 500 ccm Inhalt kommuniziert mit einer etwas größeren Kompensationskammer durch ein Differentialmanometer, das mit Petroleum gefüllt ist. Beide Kammern können mit der äußeren Atmosphäre verbunden werden. Außerdem

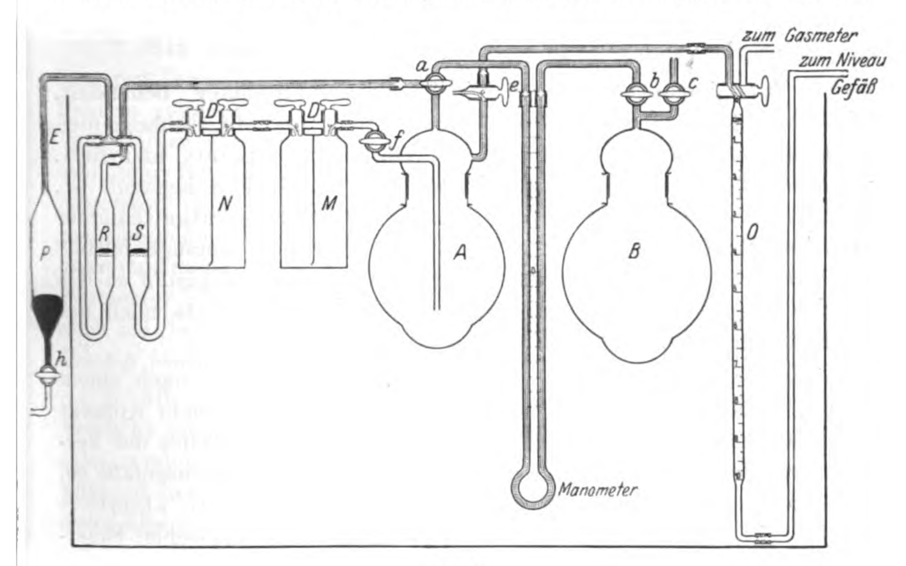


Abb. 1.

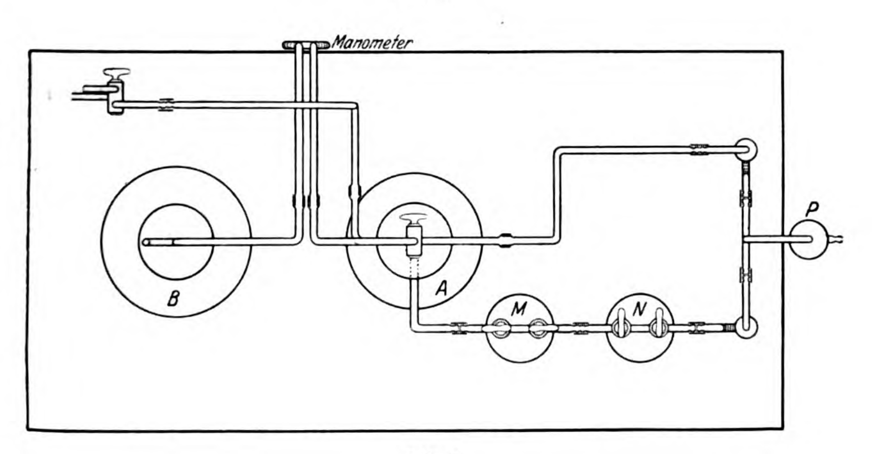


Abb. 2.

kommuniziert die Respirationskammer einerseits mit Absorptionsgefäßen, in welchen eine Quecksilberpumpe die Gase der Respirationskammer zirkulieren läßt und Wasserdampf sowie Kohlensäure absorbiert werden können, andererseits mit einer Gasbürette, aus welcher

der verbrauchte Sauerstoff ersetzt werden kann. Die Hahnverbindungen sind so eingerichtet, daß die Kammer von der Zirkulation und der Sauerstoffzufuhr beliebig abgeschlossen werden kann, daß die Zirkulation unter Absorption von Wasser und Kohlensäure oder ohne Absorption erfolgen kann.

Es ergeben sich also folgende Arbeitsmöglichkeiten:

1. Der Apparat wird als Differentialrespirometer behandelt. Man betrachtet dann die Respirationskammer und die anhängenden Absorptionsgefäße als *ein* Gefäß des Differentialapparats und liest, während das Quecksilber in der Pumpe auf die Marke eingestellt ist, an dem Manometer die Sauerstoffabnahme in der Respirationskammer ab. Die Eichung geschieht dann für den einzelnen Versuch mittels der mit dem Apparat zusammenhängenden Gasbürette genau so wie die Eichung des *Barcroft*schen Blutgasdifferentialapparats nach der Methode von *Münzer* und *Neumann*[1]).

Die Kohlensäurebildung kann in dieser Anordnung nach einem Verfahren bestimmt werden, welches *Bialaszewicz* bei seinem Apparat zur Verwendung brachte[2]). Man stellt während eines Teiles der Versuchsperiode ($T_2 - T_1$ Stunden) die Hähne der Absorptionsgefäße so, daß nur der Wasserdampf, nicht aber die Kohlensäure absorbiert werden. Die Druckabnahme zeigt dann die Differenz zwischen Sauerstoffverbrauch und Kohlensäurebildung an:

$$D = S_{\mathrm{I}} - K_{\mathrm{I}}.$$

Es wird darauf während einer genau bestimmten kurzen Zeitperiode ($T_3 - T_2$ Stunden) lebhaft ventiliert, bis die Kohlensäure völlig absorbiert ist. Die Druckabnahme zeigt dann die Summe des Sauerstoffverbrauchs der ersten Periode S_{I} und der Ventilationsperiode S_{II} an. Es wird nun vorausgesetzt, daß

$$\frac{S_{\mathrm{I}}}{T_2 - T_1} = \frac{S_{\mathrm{II}}}{T_3 - T_2},$$

daß mit anderen Worten der Sauerstoffverbrauch in der Zeiteinheit für beide Perioden gleich ist. Dann ist:

$$S_{\mathrm{I}} = S_{\mathrm{II}} \frac{T_2 - T_1}{T_3 - T_1}$$

und

$$K_{\mathrm{I}} = S_{\mathrm{I}} - D$$

und

$$K = S_{\mathrm{II}} \frac{T_2 - T_1}{T_3 - T_1} - D.$$

---

[1]) *E. Münzer* und *W. Neumann*, diese Zeitschr. **81**, **319**, **1917**.

[2]) *K. Białaszewicz*, Sprawozdania Tow. Nauk. Warsz. **9**, **991**, **1916**.

In praxi stellt sich die erste Periode auf einige Stunden, die zweite auf eine Viertelstunde. Man erhält so den Sauerstoffverbrauch und die Kohlensäureabgabe und kann diese Bestimmung beliebig oft an einem und demselben Objekt ausführen, ohne den Versuch zu unterbrechen und den Apparat zu öffnen.

2. Man kann aber auch bei stärker atmenden Objekten oder in längeren Versuchsperioden den Apparat nach dem *Regnault-Reisset*schen Prinzip verwenden. Es wird dann bei auf die Marke eingestelltem Quecksilber der Pumpe die Verbindung zwischen Sauerstoffbürette und dem Respirationskolben geöffnet und aus der Bürette so lange Sauerstoff in den Kolben gedrückt, bis die Manometerflüssigkeit den ursprünglichen Gleichstand erreicht hat. Dann wird die eingebrachte Sauerstoffmenge nach Schließung des Bürettenhahnes unter äußerem Barometerdruck abgelesen und so gebucht. Selbstverständlich kann auch bei dieser Arbeitsweise die Kohlensäure nach oben dargestelltem Prinzip bestimmt werden.

3. Alle diese Bestimmungen können im Rahmen länger dauernder Versuche vorgenommen werden. Die Absorption von Wasser in Chlorcalcium oder Schwefelsäure und der Kohlensäure in Natronkalk geschieht während der Ventilation, und es kann in entsprechenden Zeiträumen unter Abschluß des Respirationskolbens und Austausch der Absorptionsgefäße die Bildung von Kohlensäure und Wasser gravimetrisch bestimmt werden. Es ist daraus zu ersehen, daß derselbe Versuch manometrisch, volumetrisch und gravimetrisch verfolgt und kontrolliert werden kann.

Es sei noch bemerkt, daß zu jeder Zeit, was besonders am Versuchsschluß wichtig ist, eine genau bestimmte Gasprobe aus der Respirationskammer in die Gasbürette entnommen und der Gasanalyse unterworfen werden kann.

Schließlich kann zu Beginn und zu Ende des Gesamtversuchs die Respirationskammer bei geschlossenen Hähnen mit dem Versuchsobjekt gewogen und auf diese Weise der gesamte Sauerstoffverbrauch nach dem Prinzip von *Haldane* gravimetrisch kontrolliert werden, was besonders bei langdauernden Versuchen an stark atmenden Objekten wichtig sein kann. Es ist dann:

$$(M_2 - M_1) + (N_2 - N_1) - (A_1 - A_2) = 0,$$

wobei 0 den Sauerstoffverbrauch in Milligrammen, A_1 und A_2 Anfangs- und Endgewicht der Kammer, $M_1 M_2$ bzw. $N_1 N_2$ Anfangs- und Endgewichte der Absorptionsgefäße bedeuten. Voraussetzung dieser Methode ist selbstverständlich, daß die Zusammensetzung der Gase in der Kammer und in den Absorptionsgefäßen zu Beginn und Ende des Versuchs gleich ist, was in der oben beschriebenen Weise kontrolliert werden kann.

Der Apparat, wie wir ihn benutzen, zeigt die Abnahme von 1 ccm Gas durch Niveaudifferenz von 16 mm am Differentialmanometer an. Die Gasbürette ist in $^1/_{20}$ ccm geteilt. Die volumetrische und die manometrische Ablesung ist also von gleicher Genauigkeit.

Einer besonderen Berücksichtigung bedürfen die Verhältnisse des Wasserdampfdruckes. Man kann unter Umständen, z. B. bei Versuchen an Chrysaliden, die Atmosphäre in der Respirationskammer bei mäßiger Ventilation trocken erhalten und alle Ablesungen bei dampffreier Atmosphäre ausführen. Ja, bei länger dauernden Versuchen an Puppen ist es sogar vorteilhaft, die Ventilation und die Wasser- und Kohlensäureabsorption nur von Zeit zu Zeit in kurzen Perioden erfolgen zu lassen, damit das Milieu der Puppe nicht zu trocken bleibt. Andererseits ist es aber nicht möglich, bei Versuchen an Raupen die Ablesungen bei wasserdampffreier Atmosphäre zu machen. Wenn eine die Verpuppung vorbereitende Raupe von Deilephila euphorbiae nach einigen Tagen heftiger Bewegung zur Ruhe kommt, so entwickelt das etwa 5 g schwere Tier im Verlauf von etwa 2 Tagen gegen 1 g Wasser, d. h. bei 20^0 54 Liter gesättigten Wasserdampf. Da die Ventilation in dieser Zeit 86 Liter beträgt, so kreist im Apparat — bis an das Chlorcalciumrohr — eine etwa 60 proz. gesättigte Luft. Unter diesen Umständen kann man die Ablesung nur bei dampfgesättigter Atmosphäre ausführen. Man stellt vor der Ablesung die Hahnstopfen der Absorptionsgefäße so, daß die Luft die Absorptionsmassen nicht passiert, ventiliert und beobachtet in kurzen Abständen das Steigen des Druckes am Manometer bis zu seinem Maximum, worauf die übliche Ablesung geschieht. Selbstverständlich werden alle Ablesungen in derselben Weise ausgeführt und die Eichung des Apparats geschieht ebenfalls bei ausgeschalteten Absorptionsgefäßen. In der Respirationskammer befindet sich übrigens an sichtbarer Stelle ein kleines Milchglasplättchen, das mit Kobaltchlorid in Gummiarabikum bestrichen ist und durch seine Färbung gestattet, sich über den Sättigungszustand in der Kammer zu orientieren.

II.

Der Respirationsapparat ist in Abb. 1 und 2 abgebildet. Er ist ganz aus starkem Glase angefertigt[1]), die Verbindungen bestehen aus Glasröhren und Schliffen; nur an einigen Stellen sind anstoßende Glasröhren durch starken Gummischlauch verbunden, da der Apparat sonst brüchig und unbequem wäre. Die verwendeten Gummischläuche bestehen aus bestem Paragummi und sind mit Vaselin imprägniert. Die Gefäße, also Respirationskammer, Kompensationskolben, Absorptions-

[1]) Er wurde von Paul Haack, Wien IX, Garelligasse, angefertigt und kostet (ohne Bad) 200 Schilling.

gefäße, Ventile, Gasbürette tauchen unter Wasser, aus dem nur die kapillaren Teile herausragen. Das Manometer und die Pumpe befinden sich außerhalb des Bades.

Die Gefäße sind durch außen angebrachte Bleigewichte so beschwert, daß sie im Wasser frei schweben und nur durch einige lose Drahthaken von oben befestigt sind. Dadurch ist der auf den ersten Blick komplizierte Apparat durchaus geschmeidig und bequem zu handhaben. Über die Anordnung der Hähne ist folgendes zu bemerken:

Das Manometer wird durch den Hahn *b* und den Dreiweghahn *a* mit den beiden Kolben verbunden. Während des Versuchs muß zumindest der Hahn *a*, besser noch *a* und *b* gegen das Manometer abgeschlossen sein, da sonst die Tätigkeit der Pumpe die Manometerflüssigkeit herausschleudern würde. Wenn man zu einer Ablesung schreitet, so stellt man zuerst das Quecksilber im Pumpengefäß auf die Marke *E* ein, schließt den Hahn *h* und öffnet dann, vorsichtig tastend, die Hähne *a* und *b* gegen das Manometer. Erst nach Abschluß des Manometers kann die Pumpe wieder in Gang gesetzt werden. Verfährt man wie unter 2 angegeben, so ist es manchmal nötig, den Sauerstoff vor der völligen Öffnung des Manometers zuzusetzen.

Die Absorptionsgefäße sind mit solchen Hahnstopfen versehen, daß jeder bei der Wägung gänzlich abgeschlossen werden kann, und daß durch die Drehung der Stopfen um 90° gegenüber der in der Abb. 1 angegebenen Stellung der Gasstrom durch das Rohr *D* laufen kann, ohne die Absorptionsmassen zu passieren. Atmosphärischer Druck kann im ganzen System durch Öffnung der Hähne *a*, *c*, *e*, *f* hergestellt werden. Die Schliffe sind mit reiner Vaseline gefettet.

Die Quecksilberpumpe besteht aus einem etwa 40 ccm fassenden pipettenartigen Gefäß. Das Quecksilber wird durch eine weiter unten zu beschreibende Vorrichtung auf und nieder geschoben. Als Ventile verwenden wir *Stock*sche Ventile aus porösem Glas von *Schott* und *Gen.* in Jena. Diese Ventile habe ich für diesen Zweck auf Vorschlag von Prof. *Parnas* in Anwendung gebracht, und zwar mit Platten von der groben Korngröße 3 bis 5 und 20 mm Durchmesser. Diese Platten lassen die Luft bei den geringen Druckdifferenzen schnell hindurchtreten und lassen andererseits bei diesen Druckdifferenzen kein Quecksilber durch. Sie stellen für diesen Typus der Respirationsapparate das billigste und betriebsicherste Ventil dar.

Für die Bewegung des Quecksilbers benutzten wir eine überaus einfache und betriebssichere Vorrichtung, die ich einem Vorschlag von Prof. *Parnas* verdanke. Sie wirkt nach der Art eines Syphonrekorders. Auf der Schale einer hängenden Handelswage steht eine

florentinische Flasche. Ihr Auslauf ist mit einem weiten Schlauch verbunden, dessen Ende über dem Wasserausguß fixiert ist. In die Öffnung der Flasche hängt ein Glasrohr, das mit dem Wasserhahn kommuniziert. Die zweite Schale der Wage trägt das Quecksilberniveaugefäß der Pumpe *P*. Durch Auflage von Gewichten sind beide Schalen so equilibriert, daß die florentinische Flasche niedersinkt, wenn sie gefüllt ist. Dann fließt das Quecksilber in das Gefäß *P* und die Endposition der Wage ist durch einen Draht so fixiert, daß das Quecksilber in *P* nicht über *E* steigt. Wenn die Flasche fast voll ist, wird das Wasser durch den weiten Auslauf sehr schnell ausgehebert, und während dies geschieht, steigt sie in die Höhe; das zurückströmende Quecksilber trägt dazu bei. Bei richtiger Belastung und Fixierung der unteren Stellung der Wage bewegt sich das Quecksilber ununterbrochen und überaus gleichmäßig auf und ab. Diese Vorrichtung kann ohne jede Wartung und bei Wasserverbrauch von weniger als 1 Liter in der Minute wochen- und monatelang in Betrieb sein.

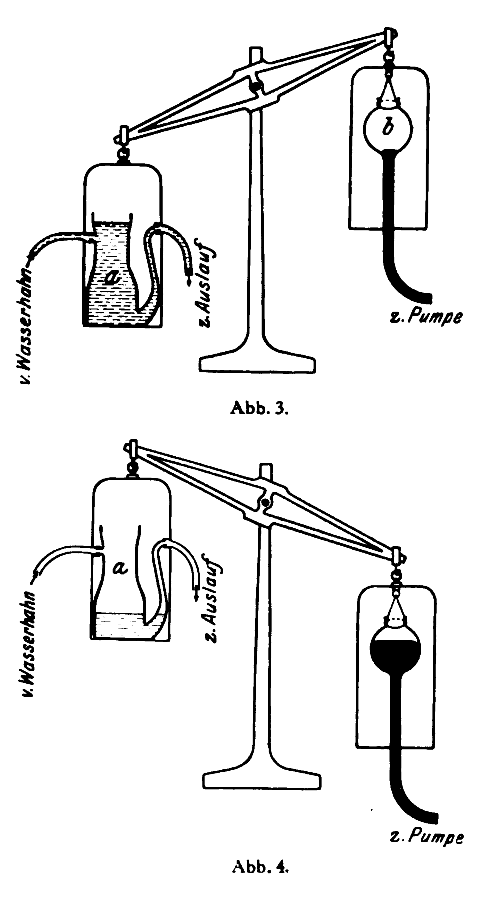


Abb. 3.

Abb. 4.

III.

Über die Versuche, die mit diesem Apparat ausgeführt worden sind, wird an anderer Stelle berichtet. Es sei hier nur folgendes bemerkt: Wenn man den Stoffwechsel einer sich verpuppenden Deilephilaraupe während der Verpuppung untersucht, so fängt das Stadium einer rastlosen Beweglichkeit mit einem Stoffwechsel von etwa 60 ccm Sauerstoff pro 24 Stunden an. Während der nächsten 3 Tage fällt diese Größe auf etwa 40 ccm und dann nach dem Aufhören der Bewegung ziemlich plötzlich auf 10 ccm. Es folgt eine Periode ge-

waltigen Wasserentwicklung. Vor dem Abstreifen der Raupenhülle erfolgt eine erneute starke Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs und dann erneute Wasserentwicklung. Der respiratorische Quotient ändert sich während dieser Zeit. Dann erst fangen die Vorgänge des Puppenstadiums an, die ich anderwo beschrieben habe. Alle diese Vorgänge können im Laufe von Tagen, Wochen und Monaten an demselben Objekt mit demselben Apparat und unter gegenseitiger Kontrolle der einzelnen Bestimmungen durch verschiedene Methoden verfolgt werden.

Die Ausbildung des Apparats wurde von Prof. *Parnas* durch Kritik und Anregung gefördert und durch die Mittel des Instituts ermöglicht.

Über die Lichtabsorption von Blättern einiger Bäume.

Von

G. I. Pokrowski.

(Aus dem Plechanoff-Institut für Volkswirtschaft in Moskau.)

(Eingegangen am 18. September 1925.)

Die Absorptionsspektren der Pigmente, welche sich in den Blättern von Gewächsen befinden, wurden mehrmals gemessen. Doch wurden diese Pigmente immer in Lösungen untersucht. Das Absorptionsspektrum der Blätter selbst war dagegen bis zur letzten Zeit kaum bekannt. Zwar liegen über diesen Gegenstand Arbeiten von *Gamburzew*[1]) und *Lasareff*[2]) vor, doch sind diese Autoren zu keinen bestimmten Ergebnissen gekommen.

Diese Arbeit bestrebt daher folgende zwei Ziele: 1. die Absorptionsfähigkeit verschiedener Blätter für verschiedene Wellenlängen festzustellen und zu prüfen, in welchem Maße und durch welche Ursachen diese Absorptionsfähigkeit geändert werden kann. 2. Die ganze, durch das Blatt absorbierte Energie für verschiedene Wellenlängen zu messen.

Das Absorptionsspektrum von Blättern kann am leichtesten im reflektierten Lichte gemessen werden. Dazu eignet sich gut die Apparatur, die der von *Woronkoff* beschriebenen[3]) ähnlich ist. Als Lichtquelle diente bei mir eine „½ Watt"-Glühlampe von 600 HK. Das Licht fiel normal auf die Oberfläche des zu untersuchenden Blattes und wurde unter einem Winkel von 10 Grad mittels eines Spektro-

---

[1]) *W. Gamburzew*, Journ. f. angew. Phys. (russisch) **1**, 120, 1924.
[2]) *P. Lasareff*, ebendaselbst **1**, 142, 1924.
[3]) *G. P. Woronkoff*, Zeitschr. f. techn. Phys. **3**, 99, 1924.

photometers von *König-Martens* untersucht. Die Intensität des vom Blatte reflektierten Lichtes wurde mit der Intensität des Lichtes verglichen, welches von einer mit Magnesiumoxyd bedeckten Glasplatte reflektiert wurde.

Wie es an einer anderen Stelle[1]) gezeigt ist, folgt die Reflexion von einer genügend matten Oberfläche bei normaler Inzidenz des Lichtes annähernd dem *Lambert*schen Kosinusgesetz. Dementsprechend kann man annehmen, daß die Lichtströme, welche von dem Blatte und von Magnesiumoxyd diffus reflektiert sind, sich wie die mit dem Spektrophotometer gemessenen Intensitäten verhalten. Ferner kann man in erster Annäherung annehmen, daß Magnesiumoxyd ideal weiß (grau) ist, daß also sein Reflexionsvermögen sich mit der Wellenlänge nicht ändert. Das Reflexionsvermögen (*Albedo*) von Magnesiumoxyd wurde mehrmals gemessen. Man kann als den wahrscheinlichsten Wert die von *Hennig* und *Heuse*[2]) erhaltene Zahl 0,95 annehmen. Dann kann man leicht das Reflexionsvermögen der untersuchten Blätter für verschiedene Wellenlängen bestimmen. Die Zahlen, welche erhalten sind, gibt Tabelle I. Die Wellenlänge λ ist in Millimikronen gegeben. Alle untersuchten Blätter waren möglichst von gleichem Alter (etwa 1½ Monate). Sie wurden in einem Zeitraum von höchstens ½ Stunde nach dem Abschneiden vom Baume untersucht, damit das Austrocknen des Blattes die Beobachtungsergebnisse nicht beeinträchtigen könnte.

Alle untersuchten Blätter, wie aus der Tabelle I ersichtlich, weisen ein deutliches Absorptionsminimum bei $\lambda = 550\,\mathrm{m}\mu$ auf, was mit den Messungen von *Lasareff*[3]) und *Gamburzeff*[4]) gut übereinstimmt. Das starke Absorptionsmaximum von Chlorophyll, welches bei $\lambda = 660\,\mathrm{m}\mu$ liegt, ist dagegen nicht zu bemerken.

Die Mannigfaltigkeit, die die Reflexionsspektren der Tabelle I aufweisen, kann man annähernd durch verschiedene Reflexions- und Streuungsfähigkeit der Blätter erklären.

In einer anderen Arbeit[5]) habe ich gezeigt, daß das von einem Körper diffus reflektierte Licht aus zwei Teilen besteht, dem von der Oberfläche reflektierten und dem Lichte, welches aus dem Innern des Körpers zerstreut wird. Demnach erhalten wir für das Reflexionsvermögen R folgenden Ausdruck:

$$R = R_1 + R_2, \tag{1}$$

[1]) *G. P. Woronkoff* und *G. I. Pokrowski*, Zeitschr. f. Phys. **20**, 358, 1924.
[2]) *B. F. Hennig* und *W. Heuse*, Zeitschr. f. Phys. **10**, 111, 1922.
[3]) *P. Lasareff*, l. c.
[4]) *W. Gamburzeff*, l. c.
[5]) *G. I. Pokrowski*, Zeitschr. f. Phys. **30**, 66, 1924; **32**, 563, 1925.

Tabelle I.

Reflexionsvermögen von Blättern.

Nr.		λ = 450	470	480	500	520	540	550	560	580	600	620	640	650	660	670	680	690	700	710
1	Populus tremula L.	—	—	0,102	0,106	0,144	—	0,169	—	0,146	0,132	0,120	—	0,109	—	—	0,102	—	—	—
2	Tilia parvifolia .	—	—	0,081	0,098	—	—	0,175	—	—	0,140	0,122	—	0,108	0,099	0,086	0,070	0,064	0,050	0,042
3	" " .	—	—	0,085	0,104	—	—	0,165	—	—	0,131	0,120	—	0,100	0,099	0,085	0,075	0,064	0,052	0,043
4	Fraxinus excelsior	—	—	0,025	0,041	—	—	0,115	—	—	0,077	0,067	—	0,054	0,054	0,050	0,050	0,041	0,041	0,036
5	" "	—	—	0,023	0,041	—	—	0,086	—	—	0,064	0,059	—	0,053	0,052	0,051	0,047	0,041	0,033	—
6	Ulmus effusa . .	—	0,50	—	0,054	—	—	0,081	—	0,071	0,064	0,064	0,064	0,057	—	—	—	—	—	—
7	" " . .	—	0,57	—	0,064	—	—	0,102	—	—	0,070	—	0,070	0,057	—	—	—	—	—	—
8	" " . .	—	0,57	—	0,074	—	—	0,102	—	—	0,079	—	0,067	0,059	—	—	—	—	—	—
9	Castanea Tourn. .	0,043	—	0,045	0,050	0,072	0,099	0,099	0,097	0,072	0,065	0,057	—	0,049	—	—	0,047	—	—	—
10	Acer platanoides L.	—	—	0,041	0,045	0,059	0,072	0,073	0,070	0,058	0,051	0,047	—	0,043	—	—	0,034	—	—	—

hier ist R_1 der Lichtstrom, welcher von der Oberfläche zurückgeworfen ist, und R_2 derjenige Lichtstrom, welcher aus dem Innern zerstreut ist. Der einfallende Lichtstrom wird hier, wie auch immer weiter, gleich Eins angenommen.

R_2 kann als ein Produkt dargestellt werden:

$$R_2 = SA, \qquad (2)$$

wobei S die Streuungsfähigkeit des Blattes, die durch seine Struktur bedingt ist, charakterisiert, und A von der Absorptionsfähigkeit der im Blatte befindlichen Pigmente in Abhängigkeit ist.

Aus Formeln (1) und (2) erhält man:

$$R = R_1 + SA. \qquad (3)$$

Man kann annehmen, daß R_1 und S mit der Wellenlänge des Lichtes sich nur wenig ändern. Also sind die verschiedenen Werte von R bei verschiedenem λ durch Änderung von A mit λ bedingt. Man kann solche relative Werte von A für verschiedene Wellenlängen finden, daß bei passender Wahl von R_1 und S die Größen von R für die untersuchten Fälle annähernd nach Formel (3) gefunden werden können. Die entsprechenden Zahlen sind in Tabelle II gegeben. Die Nummern in der ersten Kolumne dieser Tabelle entsprechen den Nummern der Tabelle I. Tabelle II gibt auch die Werte von A.

Außer der oberen Seite wurde zum Vergleich bei einigen Blättern auch die untere Seite untersucht. Entsprechende Werte von R sind in Tabelle III gegeben.

Tabelle 11.

Nr.		λ = 480	500	520	540	550	560	580	600	620	640	650	660	670	R_1	S
1	R beobachtet	0,102	0,106	0,144	—	0,169	—	0,146	0,132	0,120	—	0,109	—	—	0,057	1
	R berechnet	0,091	0,107	0,143	—	0,177	—	0,152	0,139	0,125	—	0,108	—	—		
	Differenz . .	+ 0,011	− 0,001	+ 0,001	—	− 0,008	—	− 0,008	− 0,007	− 0,005	—	+ 0,001	—	—		
Mittel aus 2 und 3	R beobachtet	0,083	0,101	—	—	0,170	—	—	0,136	0,121	—	0,104	0,099	0,086	0,053	1
	R berechnet	0,087	0,103	—	—	0,173	—	—	0,135	0,121	—	0,104	0,101	0,097		
	Differenz . .	− 0,004	− 0,002	—	—	− 0,003	—	—	+ 0,001	0,000	—	0,000	− 0,002	− 0,011		
4	R beobachtet	0,025	0,041	—	—	0,115	—	—	0,077	0,067	—	0,054	0,054	0,050	0,000	0,95
	R berechnet	0,032	0,047	—	—	0,114	—	—	0,078	0,065	—	0,049	0,046	0,042		
	Differenz . .	− 0,007	− 0,006	—	—	+ 0,001	—	—	− 0,001	+ 0,002	—	+ 0,005	+ 0,008	+ 0,008		
Mittel aus 6, 7 und 8	R beobachtet	—	0,064	—	—	0,095	—	—	0,071	—	0,067	0,058	—	—	0,035	0,5
	R berechnet	—	0,060	—	—	0,095	—	—	0,076	—	0,063	0,060	—	—		
	Differenz . .	—	+ 0,004	—	—	0,000	—	—	− 0,005	—	+ 0,004	− 0,002	—	—		
9	R beobachtet	0,045	0,050	0,072	0,099	0,099	0,097	0,076	0,065	0,057	—	0,049	—	—	0,024	0,6
	R berechnet	0,045	0,054	0,076	0,095	0,096	0,094	0,081	0,073	0,065	—	0,054	—	—		
	Differenz . .	0,000	− 0,004	− 0,004	+ 0,004	+ 0,003	+ 0,003	− 0,005	− 0,008	− 0,008	—	− 0,005	—	—		
10	R beobachtet	0,041	0,045	0,059	0,072	0,073	0,070	0,058	0,051	0,047	—	0,041	—	—	0,014	0,5
	R berechnet	0,031	0,039	0,057	0,073	0,074	0,072	0,062	0,055	0,048	—	0,040	—	—		
	Differenz . .	+ 0,010	+ 0,006	+ 0,002	− 0,001	− 0,001	− 0,002	− 0,004	− 0,004	− 0,001	—	+ 0,001	—	—		
	A =	0,034	0,050	0,086	0,118	0,120	0,116	0,095	0,082	0,068	0,056	0,051	0,048	0,044		

Tabelle III.

Reflexionsvermögen von Blättern (untere Seite).

Nr.	λ = 480	500	520	530	540	550	560	570	580	600	620	650	680
1	0,221	0,237	0,293	—	—	0,320	—	—	0,301	0,284	0,278	0,261	0,261
9	0,102	0,119	0,159	—	0,174	0,181	0,173	—	0,155	0,148	0,138	0,127	0,110
10	0,102	0,125	—	0,154	—	0,167	—	0,171	—	0,148	—	0,129	0,116

Die Zahlen der Tabelle III sind alle größer als die entsprechenden Zahlen der Tabelle I. Das deutet darauf, daß in diesem Falle die Werte von A bedeutender sind, was einer kleineren Konzentration von Chlorophyll und anderen Pigmenten auf der unteren Blattseite entspricht.

Wie schon früher gesagt war, hatten die untersuchten Blätter ein Alter von etwa 1 ½ Monat. Wenn man aber Blätter untersucht, die von einem und demselben Baume genommen sind, aber verschiedenes Alter haben, so erhält man sehr verschiedene Reflexionsspektra, wie es die Tabelle IV zeigt.

Tabelle IV.

Blätter von Tilia parvifolia.

Nr.	Alter Monat	λ = 450	480	500	520	550	580	600	620	650	680
2	1,5	—	0,081	0,098	—	0,175	—	0,140	0,122	0,108	0,102
2a	2	0,047	—	0,068	0,118	0,165	0,150	0,127	—	0,095	0,075
2b	3	0,047	—	0,057	0,072	0,086	0,075	0,065	—	0,058	—

Wie aus dieser Tabelle ersichtlich, verkleinert sich R schnell mit dem Alter, besonders für größere Werte von λ, was durch Vergrößerung der Konzentration der Pigmente und durch Niederschlag von Staub und Schmutz am einfachsten zu erklären ist.

Außer dem Reflexionsvermögen wurde für einige Blätter auch das Durchlässigkeitsvermögen gemessen. Unter dem Durchlässigkeitsvermögen D verstehen wir den Lichtstrom, welcher durch das Blatt gegangen ist, wenn der einfallende Lichtstrom gleich Eins ist. Um bei der Bestimmung von D die Wirkung von Lichtzerstreuung zu eliminieren, wurde vor die Spalte des *König-Martens*schen Spektrophotometers eine Milchglasplatte gestellt, an die, vor einem der Spalte, das Blatt gepreßt wurde. Wegen der großen Lichtschwächung durch Zerstreuung in dem Milchglase, konnte ich die Messungen leider nur im mittleren Spektralgebiet ausführen. Die Tabelle V gibt die entsprechenden Werte von D.

Tabelle V.

Durchlässigkeitsvermögen einiger Blätter.

Nr.	$\lambda = 480$	500	550	600	620	650
2	—	0,079	0,298	0,182	0,155	—
3	—	0,062	0,269	0,170	0,141	—
4	0,064	0,086	0,175	0,124	0,111	0,098
5	0,024	0,039	0,105	0,069	0,059	0,041

Wie aus dieser Tabelle ersichtlich, sind die Werte von D für eine und dieselbe Baumart viel weniger konstant als die Werte von R.

Nachdem R und D bestimmt sind, kann leicht die eigentliche vom Blatte absorbierte Energie U (die einfallende Energie gleich Eins) aus folgendem Ausdruck erhalten werden.

$$U = 1 - (R + D). \tag{4}$$

Die Werte von U für Blätter von Tilia parvifolia (2) und (3) und Fraxinus excelsior (4) und (5) sind in der Tabelle VI gegeben. Die entsprechenden Werte von R sind der Tabelle I und die Werte von D der Tabelle V entnommen.

Tabelle VI.

Die Energie, die von Blättern absorbiert wird.

Nr.	$\lambda = 480$	500	550	600	620	650	
2	—	0,823	0,527	0,678	0,723	—	Tilia parvifolia
3	—	0,834	0,566	0,699	0,739	—	
4	0,911	0,873	0,710	0,799	0,822	0,848	Fraxinus excelsior
5	0,953	0,920	0,809	0,867	0,882	0,906	

Die Zahlen dieser Tabelle sind bis etwa 5 Proz. genau; dabei sind sie eher zu klein als zu groß.

Zusammenfassung.

Die Ergebnisse dieser Arbeit können folgendermaßen zusammengestellt werden:

1. Es wird eine Methode beschrieben, das Reflexions- und Durchlässigkeitsvermögen von Laubblättern für Licht von verschiedenen Wellenlängen zu messen.

2. Es wird gezeigt, daß die Verschiedenheiten in den Reflexionsspektren untersuchter Blätter durch verschiedene Oberflächenreflexion und Zerstreuungsfähigkeit der Blätter erklärt werden können[1]).

3. Es wird die von Blättern von Tilia parvifolia und Fraxinus excelsior absorbierte Energie berechnet.

Zum Schluß fühle ich mich verpflichtet, Frau *N. E. Pokrowskaja* für die Hilfe bei der Experimentalarbeit und für die Ausführung der Rechnungen meinen besten Dank auszusprechen.

[1]) Das gilt für das Spektralgebiet von $\lambda = 480$ bis $\lambda = 670\ m\mu$.

Über den Stoffwechsel im luftverdünnten Raume.

II. Mitteilung:
Verhalten von Blut und Leber.

Von

W. Laubender.

(Aus dem Schweizerischen Institut für Hochgebirgsphysiologie und Tuberkuloseforschung in Davos.)

(Eingegangen am 22. September 1925.)

Mit 1 Abbildung im Text.

In unserer ersten Mitteilung konnten wir zeigen, daß der relative Sauerstoffmangel im Tierexperiment, wie er bei einem Luftdruck von 430 bis 380 mm Hg auftritt, zu einer Steigerung der N-Ausscheidung im Harn unter gleichzeitiger Herabsetzung des respiratorischen Gaswechsels nach den ersten 12 bis 24 Stunden führt. Dieser Befund steht hinsichtlich des Verhaltens des Gaswechsels, wie dort erörtert wurde, in gewisser Parallele zu den Befunden bei der experimentellen Säurevergiftung. Es läßt sich indessen eine noch vollkommenere Parallele nach der Wirkung der Phosphorvergiftung hin ziehen. Wenn die älteren Untersuchungen über den Gaswechsel bei der Phosphorvergiftung[1]) nicht immer zu einem eindeutigen Resultat führten, so scheint diese Unstimmigkeit nach neueren Untersuchungen[2]) eine Frage der Dosierung und des Reaktionszustandes des Organismus zu sein, derart, daß beim normalen Warmblüter sehr niedrige Dosen zu einer Stoffwechselsteigerung, höhere Dosen dagegen zu einer Herabsetzung des Gaswechsels führen. Mit dieser Herabsetzung des Gaswechsels bei der Phosphorvergiftung geht Hand in Hand eine Steigerung des Gesamt-N und des Ammoniakkoeffizienten im Harn[3]), solange die Nieren noch funktionstüchtig bleiben[4]). Die Parallele zwischen der Wirkung der Phosphorvergiftung und der des mangelnden O_2-Angebots

---

[1]) Siehe *v. Noorden*, Handb. d. Pathol. d. Stoffw., 2. Aufl., 2, 1907.

[2]) *F. Hildebrandt* und *S. Nishiura*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 101, H. 3/4, S. 152 bis 168.

[3]) *Sekita Naosuke*, Mitt. a. d. med. Fak. d. Kais. Univ. Tokio, 28, H. 2, S. 199 bis 254.

[4]) *E. K. Marshall* und *L. G. Rowntree*, Journ. of exper. Med. XXII, 3, 333.

erscheint also in den erwähnten Punkten eine durchgängige; bei der experimentellen Säurevergiftung bestehen unseres Wissens nur Lücken hinsichtlich der N-Ausscheidung im Harn[1]).

Die Änderungen im Gaswechsel und in den Stickstoffverhältnissen des Harns unter der Einwirkung der erwähnten drei Faktoren — mangelndes O_2-Angebot, Phosphor, Säuren — sind zweifellos nur der Ausdruck eines gestörten Gewebsstoffwechsels. Das Wesen dieser Stoffwechseländerung in den Geweben durch chemisch-analytische Organuntersuchungen aufzuklären, ist unseres Wissens bisher von den in Frage stehenden Einwirkungen nur bei der Phosphorvergiftung versucht worden. *Jakoby*[2]) konnte bei derselben in älteren Untersuchungen eine prozentuale Vermehrung des nicht hitzekoagulablen Stickstoffs am Gesamtstickstoff in der Leber feststellen. Neuere Untersuchungen[3]) haben dann diesen gesteigerten Reststickstoffgehalt in der Leber auf die Art seiner Zusammensetzung geprüft und eine Verschiebung im Sinne einer relativen Vermehrung der Aminogruppen enthaltenden Spaltprodukte gefunden.

Es erhob sich nun die Frage, inwieweit auch unter dem Einfluß des mangelnden O_2-Angebots, wie er im luftverdünnten Raume wohl am einfachsten und reinsten zu erzielen ist, in den Geweben Veränderungen nachweisbar werden, die mit chemischen Methoden erfaßt werden können. Die Stoffwechseluntersuchungen wiesen auf eine besondere Beteiligung des Eiweißstoffwechsels hin. Wir konnten also hoffen, aus dem Studium der Stickstoffverhältnisse im Blute und in den Geweben, von denen wir die Leber wegen ihrer Zentralstellung im Stoffwechselgetriebe wählten, auf das Wesen der bei vermindertem O_2-Angebot eintretenden Stoffwechseländerung schließen zu können. Nebenbei glaubten wir auch den Blutzuckerspiegel wegen seiner mannigfachen Beziehungen nach dem Eiweißstoffwechsel hin nicht außer acht lassen zu dürfen.

Methodik.

Zur Herstellung und Innehaltung der *Luftverdünnungen* bedienten wir uns der in unserer ersten Mitteilung ausführlich geschilderten Apparatur.

Wir verwandten auch diesmal zu unseren Untersuchungen Meerschweinchen, die nach verschieden langer Versuchsdauer durch Carotisschnitt entblutet wurden. Das Blut wurde in einer paraffinierten Schale aufgefangen und mit Hilfe von geeichten Pipetten auf kleine Fließpapierstreifen gebracht. Die so gewonnenen, genau abgemessenen, kleinen Blutmengen konnten nach den *Bang*schen Prinzipien zur Bestimmung des Reststickstoffs und Zuckers verarbeitet werden.

[1]) *v. Noorden*, Handb. d. Pathol. d. Stoffw., a. a. O.

[2]) *Jakoby*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**, 1900.

[3]) *J. Desqueyroux*, C. r. des séanc. de la soc. de biol. **86**, Nr. 3, S. 143 bis 145.

Bei der Bestimmung des *Rest-N im Blute* nach *Bang*[1]) haben wir die Erfahrung gemacht, daß trotz genauen Befolgens der dort gegebenen Vorschriften die Streuungen in den einzelnen Analysenwerten sehr groß waren. (Wir führten anfänglich sechs Parallelbestimmungen bei demselben Blute aus, später konnten wir uns mit drei begnügen; nebenbei liefen für jeden Tierversuch anfänglich drei, und erst als wir uns von der guten Übereinstimmung überzeugt hatten, eine Leerbestimmung.) Es gelang sehr bald, den Grund für die Streuungen aufzudecken. *Pincussen*, der die *Bang*sche Methode referiert[2]), macht darauf aufmerksam, daß sich unter Umständen kleine Blutteilchen vom Fließpapierstreifchen loslösen können, und empfiehlt, die Bestimmung in diesem Falle zu verwerfen. Die angegebene Phosphormolybdänsäurelösung koaguliert nämlich so rasch und scharf das Eiweiß auf dem Blättchen, daß schon nach ganz kurzer Zeit die Oberfläche höckerig erscheint, indem das Eiweiß sich zu ganz kleinen Halbkugeln und Kugeln ballt. Es ist kaum zu verwundern, daß diese Teile sich allmählich loslösen und mit in die Extraktionsflüssigkeit gelangen. Einerseits ist dieses Ereignis so häufig, daß man einen großen Teil der Analysen verwerfen muß, und andererseits erscheint die bloße Betrachtung mit dem Auge keine sichere Gewähr für die An- oder Abwesenheit solcher Blutteilchen zu geben. Wir haben deshalb die Extraktionsflüssigkeiten stets durch kleine harte Schleicher-Schüll-Filter in den Veraschungskolben filtriert und gut mit destilliertem Wasser nachgewaschen. Auf diese Weise gelang es uns, einwandfrei übereinstimmende Analysenwerte zu erhalten.

Die Bestimmung des *Zuckers im Blute* geschah nach der neuen *Bang*schen Methode[3]).

Die *Leber* wurde aus dem entbluteten Tiere genommen und zunächst von allen Anhängen, Gallenblase usw., befreit. In der weiteren Verarbeitung hielten wir uns im wesentlichen an die von *Freund* und mir[4]) beschriebene Methodik. In einigen Punkten haben wir zweckmäßig erscheinende Änderungen eintreten lassen. Deshalb sei die Methode hier nochmals in Kürze geschildert.

Das Organ wurde in einer Reibschale zerstoßen und zerrieben. Der so gewonnene Leberbrei wurde durch ein feinmaschiges Metallsieb in ein Wägegläschen gepreßt. Diese Maßnahme sicherte uns für später ein gleichmäßiges und vollständiges Inlösunggehen der in den Leberzellen eingeschlossenen Substanzen, so daß die aus verschiedenen Portionen gewonnenen Analysenwerte nur ganz geringe Unterschiede zeigten.

Beispiel:

Angewandte Substanzmenge	0,5035 g	0,8227 g
Reststickstoff I auf 1 g Leber berechnet	3,726 mg N	3,642 mgN
Differenz:	0,084 mg N	
Angewandte Substanzmenge	0,6430 g	0,8507 g
Reststickstoff II auf 1 g Leber berechnet	2,221 mg N	2,238 mg N
Differenz:	0,017 mg N	

[1]) *I. Bang*, Mikromethoden zur Blutuntersuchung. Wiesbaden, Bergmann, 1922.

[2]) *L. Pincussen*, Mikromethodik. Leipzig, Thieme, 1923.

[3]) *I. Bang*, Mikromethoden, a. a. O.

[4]) *H. Freund* und *W. Laubender*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 99, H. 3/4, S. 131 bis 136.

Zu dem im Wägegläschen gesammelten homogenen Leberbrei fügten wir ein kleines, gut passendes Glaslöffelchen und verschlossen mit dem Schliffstopfen. Die Wägung der einzelnen für die Analysen verwandten Portionen geschah auf der analytischen Wage durch Differenzwägung. Wir bestimmten in dem Leberbrei den Gesamt-N sowie den Rest-N in zwei Fraktionen (nach Hitzekoagulation und nach Uranylacetatfällung).

Für sämtliche Stickstoffbestimmungen verwandten wir das *Mikrokjeldahlverfahren*, Destillationsanordnung nach *Pincussen*[1]).

Gesamt-N. Die abgewogene Portion wurde mit 10 ccm konzentrierter H_2SO_4, 5 g K_2SO_4, 20 Tropfen 10proz. $CuSO_4$-Lösung im Kjeldahlkolben verascht, die Lösung quantitativ in einen Meßkolben von 100 ccm übergespült und nach dem Abkühlen bis zur Marke aufgefüllt. Zur Destillation wurden 5 ccm dieser Lösung verwandt.

Rest-N I. Fraktion. Nach der Hitzekoagulation (die abgewogene Leberportion wurde in 50 ccm Wasser mit 2 g NaCl und einigen Tropfen 10proz. Essigsäure aufgeschwemmt und etwa ½ Stunde im siedenden Wasserbad gehalten) wurde das Filtrat auf 100 aufgefüllt; 25 ccm davon mit 2 ccm H_2SO_4 und 8 Tropfen 10proz. $CuSO_4$-Lösung verascht und die Gesamtmenge zur Destillation verwandt.

Rest-N II. Fraktion. Das durch Hitzekoagulation (siehe Rest-N I. Fraktion) gewonnene Filtrat wurde mit 15 ccm einer 1,5proz. Lösung von Uranylacetat gefällt, nach einigen Stunden filtriert und das Filtrat auf 100 ccm aufgefüllt; 25 ccm davon mit 2,5 ccm konzentrierter H_2SO_4 und 10 Tropfen 10proz. $CuSO_4$-Lösung verascht und die Gesamtmenge zur Destillation verwandt.

Für jede Art der N-Bestimmung verwandten wir zwei Leberportionen; die Destillationen geschahen außerdem in Doppelbestimmungen, so daß für jede Art des Stickstoffbestimmung-Gesamt-N, Rest-N I. Fraktion, Rest-N II. Fraktion vier Analysenwerte gewonnen wurden, aus denen wir die Mittelwerte in den Tabellen mitteilen.

I. Versuche bei einem Druck von 430 bis 380 mm Hg.

Wir untersuchten zunächst die Stickstoffverhältnisse in Blut und Leber bei demselben Luftdruck, bei dem wir den Gaswechsel und die Stickstoffverhältnisse im Harn untersucht hatten, d. h. bei einem Druck von 430 bis 380 mm Hg. Um auch über den zeitlichen Ablauf Aufschluß zu erhalten, entbluteten wir die Tiere teils nach 24-, teils nach 48-, teils nach 72stündigem Verweilen im luftverdünnten Raume. Die Tiere wurden genau in der gleichen Weise unterfüttert, wie in unserer ersten Mitteilung ausgeführt wurde. Als Vergleich mit der Norm wählten wir unter dem normalen hiesigen Luftdruck gehaltene Tiere, die bei entsprechendem Futter nach denselben Zeitintervallen entblutet wurden. Die Resultate sind in den Tabellen I, II, III und IV, sowie in der Abb. 1 zusammengestellt.

[1]) *Pincussen*, Mikromethodik, a. a. O.

Tabelle I.

Normale Vergleichstiere mit Unterfütterung.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Futter: Karotten g	Versuchs-dauer Stdn.	Gesamt-N in 1 g Leber mg	Rest-N I in 1 g Leber mg	Rest-N II in 1 g Leber mg	Rest-N I in Proz. des Gesamt-N	Rest-N II in Proz. des Gesamt-N	P.-Fr. in Proz. des Gesamt-N
Meerschweinchen Nr. 10, 280,0 bis 260,0 g . .	40,00	24	33,84	3,57	2,28	10,55	6,73	3,82
Meerschweinchen Nr. 13, 290,0 bis 290,0 g . .	70,00	24	33,67	3,28	1,91	9,74	5,67	4,07
			Durchschnitt:			10,15	6,20	3,95
Meerschweinchen Nr. 23, 280,0 bis 255,0 g . .	60,00	48	34,36	4,33	2,01	12,61	5,85	6,76
Meerschweinchen, Nr. 24 300,0 bis 240,0 g . .	90,00	72	36,17	5,37	2,71	14,85	7,49	7,36

Tabelle II.

Tiere bei einem Luftdruck von 430 bis 380 mm Hg mit Unterfütterung.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Futter: Karotten g	Versuchs-dauer Stdn.	Gesamt-N in 1 g Leber mg	Rest-N I in 1 g Leber mg	Rest-N II in 1 g Leber mg	Rest-N I in Proz. des Gesamt-N	Rest-N II in Proz. des Gesamt-N	P.-Fr. in Proz. des Gesamt-N
Meerschweinchen, Nr. 9 350,0 bis 320,0 g . .	50,00	24	34,95	3,67	2,50	10,50	7,16	3,34
Meerschweinchen, Nr. 11 260,0 bis 250,0 g . .	40,00	24	33,34	3,68	2,23	11,05	6,69	4,36
			Durchschnitt:			10,78	6,93	3,85
Meerschweinch, enNr. 20 270,0 bis 240,0 g . .	60,00	48	36,64	3,99	2,26	10,89	6,17	4,72
Meerschweinchen Nr. 22 310,0 bis 280,0 g . .	60,00	48	34,82	3,13	1,92	9,00	5,52	3,48
			Durchschnitt:			9,95	5,85	4,10
Meerschweinchen Nr. 7, 460,0 bis 400,0 g . .	180,00	72	34,67	3,53	2,19	10,17	6,98	3,19
Meerschweinchen, Nr. 8 570,0 bis 520,0 g . .	270,00	72	34,33	3,56	2,57	10,38	7,49	2,89
			Durchschnitt:			10,28	7,24	3,04

Tabelle III. Normale Vergleichstiere mit Unterfütterung.

		Versuchsdauer Stdn.	Zucker in 100 g Blut mg	Rest-N in 100 g Blut mg
Meerschweinchen	Nr. 10	24	92,3	29,8
„	Nr. 13	24	136,1	33,5
„	Nr. 23	48	133,6	31,6
„	Nr. 24	72	108,5	41,9
		Durchschnitt	**117,6**	**34,2**

Tabelle IV.

Tiere bei einem Luftdruck von 430 bis 380 mm Hg mit Unterfütterung.

		Versuchsdauer Stdn.	Zucker in 100 g Blut mg	Rest-N in 100 g Blut mg
Meerschweinchen	Nr. 9	24	85,9	46,5
„	Nr. 11	24	99,2	38,7
		Durchschnitt:	**92,6**	**42,6**
Meerschweinchen	Nr. 20	48	126,5	45,5
„	Nr. 22	48	138,3	37,5
		Durchschnitt:	**132,4**	**41,5**
Meerschweinchen	Nr. 7	72	99,9	48,2
„	Nr. 8	72	82,3	40,2
		Durchschnitt:	**91,1**	**44,2**
		Gesamtdurchschnitt:	**105,4**	**42,8**

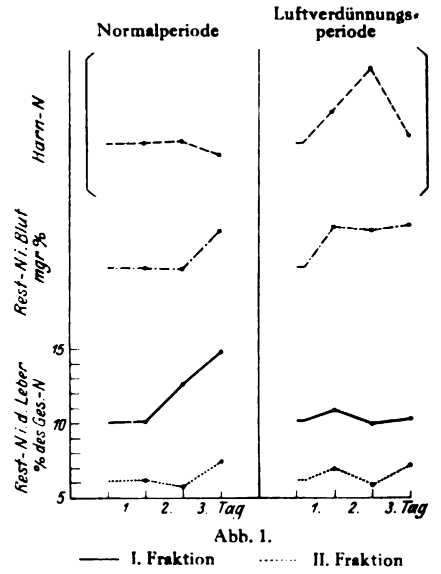


Abb. 1.

Der *Gesamt-N* in 1 g Leber läßt in der *Normalperiode* ein leichtes Ansteigen gegen den dritten Tag hin erkennen. Dieses Verhalten muß wohl so gedeutet werden, daß infolge der Unterfütterung die in der Leber vorhandenen, nicht dem Eiweißbestand angehörenden Reservestoffe aufgebraucht werden, so daß in der Leber relativ mehr Eiweißkörper vorhanden sind. Der Gesamt-N pro Gramm Lebersubstanz sagt eben nichts aus über die absolut vorhandene Eiweißmenge, seine Größe hängt vielmehr ab von der Menge der sonst noch vorhandenen Stoffe, wie Fette, Kohlehydrate, Wasser und Salze usw.

Der *Rest-N der ersten Fraktion* zeigt ebenfalls ein Ansteigen, und zwar ein sehr viel stärkeres als das des Gesamt-N, was durch die Berechnung des Rest-N in Prozenten des Gesamt-N zum Ausdruck kommt.

Der *Rest-N der zweiten Fraktion* steigt nur unbedeutend, wenn auch etwas mehr als der Gesamt-N, gegen Ende des dritten Tages an.

Aus dem verschiedenen Verhalten beider Fraktionen folgt, daß die Menge derjenigen Stoffe, die durch Uranylacetat ausgefällt werden — das sind im wesentlichen Peptone und Albumosen —, mächtig ansteigt. Wir haben die prozentuale Menge dieser Körper als Differenz von Fraktion I und II berechnet und in die letzte Spalte der Tabellen aufgenommen (Pepton-Fraktion = P.-Fr.).

Die protrahierte Unterfütterung im Normalversuch führt also zu einer Steigerung des Rest-N in der Leber, die im wesentlichen auf einer Vermehrung der Peptone und Albumosen beruht. Wenn wir die Steigerung des Rest-N in der Leber nach dem Vorgehen von *Jakoby*[1]) und *Pick* und *Hashimoto*[2]) im Sinne einer gesteigerten intravitalen Autolyse auffassen, worüber weiter unten zu diskutieren ist, so können wir wohl unseren Befund als den Ausdruck einer fortschreitenden *Hungerautolyse* in der Leber, dem Stapelorgan des Organismus, deuten. Dieser Befund scheint aus zwei Gründen von Bedeutung: erstens liegen unseres Wissens über die Art und Weise, wie die Hungerautolyse im Organismus zustande kommt, chemische Organuntersuchungen nicht vor, und zweitens müssen diese Verhältnisse überall da wohl berücksichtigt werden, wo es sich um die Frage handelt, ob irgend eine Einwirkung auf den Organismus zu einer Steigerung der sogenannten Intravitalautolyse führt, wenn dabei gleichzeitig die Nahrungsaufnahme sinkt.

Diesen Veränderungen der verschiedenen Stickstofffraktionen in der Leber bei unseren unterfütterten Vergleichstieren steht nun eine merkwürdige Konstanz der Stickstoffverhältnisse bei den unter einem Luftdruck von 430 bis 380 mm Hg gehaltenen Tieren gegenüber. Sowohl der absolute Wert des Gesamt-N und des Rest-N I und II, wie auch der prozentuale Anteil beider Fraktionen am Gesamt-N schwankt nur wenig. Die zweite Fraktion zeigt allerdings gegen den dritten Tag ein gewisses Ansteigen. Da die erste Fraktion dabei unverändert bleibt, kommt es zu einer Einschränkung der Peptonfraktion, die vielleicht den Hinweis auf einen gesteigerten Abbau der Peptone zu niederen Abbauprodukten (Ammoniakbildung ?) gibt.

Ein Sauerstoffmangel innerhalb der angedeuteten Grenzen führt also, wenn wir uns an die Betrachtung der Stickstoffverhältnisse im

[1]) *Jakoby*, a. a. O.

[2]) *Pick* und *Hashimoto*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **76**, 89, 1914; Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **21**, 237. 1914.

Organ halten, zu keiner Steigerung der sogenannten intravitalen Autolyse. Daß es nicht einmal zu den im Normalversuch konstatierten Veränderungen kommt, hat seinen Grund wohl darin, daß infolge der von uns nachgewiesenen Stoffwechselhemmung die dargebotene Nahrung kalorisch ausreicht, so daß der Organismus nicht zu seinem Eiweißbestand zu greifen braucht.

Der *Rest-N im Blute* zeigt einen wesentlich anderen Gang (Tabellen III und IV, Abb. 1). Während in der Normalperiode der Rest-N in den beiden ersten Versuchstagen ziemlich konstant bleibt, um am dritten Tage eine gewisse Steigerung zu erfahren, geht derselbe in der Luftverdünnungsperiode schon in den ersten 24 Stunden in die Höhe und hält sich auf dieser Höhe während der drei Versuchstage mit einer gewissen Tendenz zur weiteren Steigerung. Dieses Verhalten beruht sicherlich nicht auf Ausscheidungsschwierigkeiten durch die Niere. Das beweist der Gang des Gesamt-N im Harn, den wir zur besseren Übersicht aus der ersten Mitteilung in Abb. 1 reproduziert haben.

Das Gesamtbild des Eiweißstoffwechsels in der Luftverdünnungsperiode gegenüber der Normalperiode, wie es sich aus der Betrachtung der Stickstoffverhältnisse im Harne als dem Sammelpunkt der Endprodukte, im Blute als dem Vermittler und in der Leber als der Bildungsstätte ergibt, hat zweifellos etwas überraschendes. Die Berücksichtigung von Blut und Harn allein zwingt zu der Annahme eines gesteigerten Eiweißabbaues unter dem Einfluß des O_2-Mangels. Die Größe des Rest-N in der Leber scheint für dieses Organ geradezu das Gegenteil zu beweisen, d. h. Einschränkung der Eiweißabbauvorgänge bei O_2-Mangel. Für die Lösung dieses scheinbaren Widerspruchs bestehen unseres Erachtens nur zwei Möglichkeiten: Entweder stammen die bei O_2-Mangel in Blut und Harn erscheinenden N-haltigen Endprodukte aus einem anderen Organ als der Leber, oder die in der Leber in vermehrtem Maße gebildeten N-haltigen Abbauprodukte kommen so rasch zur Ausscheidung, daß der Rest-N-Spiegel in diesem Organ dadurch keine Erhöhung erfährt. Die Entscheidung zwischen diesen beiden Möglichkeiten kann nur durch erneute experimentelle Studien erbracht werden.

Es ist aber vielleicht an dieser Stelle angebracht, die Frage, *inwieweit wir aus einer etwaigen Erhöhung des Rest-N-Spiegels in der Leber auf eine Vermehrung des Eiweißabbaues im Organ schließen dürften*, theoretisch zu erörtern.

Jede N-Fraktion, die wir durch künstliche Maßnahmen aus der Leber herausschälen, sei es die erste oder zweite Fraktion in unserem Sinne oder die Peptonfraktion, stellt eine Größe dar, die im Organismus einem beständigen Wechsel unterworfen ist dadurch, daß die in ihr enthaltenen Stoffe auf der einen Seite beständig neu gebildet und auf der anderen Seite beständig chemisch abgebaut oder abtransportiert

werden. Da nun durch zahlreiche Untersuchungen[1]) festgestellt ist, daß die Größe dieser einzelnen N-Fraktionen in der Leber unter normalen Bedingungen nur wenig schwankt, so müssen wir schließen, daß es sich dabei um einen dynamischen Gleichgewichtszustand handelt, vergleichbar dem Spiegel eines Wasserbeckens, in dem in der Zeiteinheit ebensoviel Wasser zufließt als abfließt.

Um die Bedingungen für die Veränderung dieses Spiegels zu erörtern, sei es uns gestattet, das System in eine einfache mathematische Form zu kleiden. Bezeichnen wir die in der Zeiteinheit zuströmende Wassermenge bzw. die in der Zeiteinheit neu gebildete Menge von Stoffen mit m_z und die in der Zeiteinheit abströmende Wassermenge bzw. die in der Zeiteinheit abgebaute oder abtransportierte Stoffmenge mit m_a, so hängt die Spiegelhöhe (y) in folgender Weise von diesen Größen ab[2])

$$y = \left(\frac{m_z}{m_a} - 1\right) m_a \,.\, t \,.\, k_1 + k_2 \qquad \text{(a)}$$

(t = Zeit, k_1 und k_2 Konstanten).

Aus dieser Gleichung ist zu ersehen, daß y eine lineare Funktion von t darstellt, solange m_z und m_a sich nicht ihrerseits mit der Zeit ändern. Für genügend kleine Zeiträume ist es nach den Prinzipien der Differentialrechnung unter allen Umständen gestattet, m_z und m_a als konstant zu betrachten.

Der Verlauf der Spiegelhöhe (y) hängt darnach im wesentlichen von dem Verhältnis $\frac{m_z}{m_a}$ ab; für dieses Verhältnis lassen sich drei Hauptmöglichkeiten diskutieren:

$$1.\ m_z = m_a \quad \text{oder} \quad \frac{m_z}{m_a} = 1$$

$$2.\ m_z > m_a \quad \text{oder} \quad \frac{m_z}{m_a} > 1$$

$$3.\ m_z < m_a \quad \text{oder} \quad \frac{m_z}{m_a} < 1$$

In die obige Gleichung (a) eingesetzt, ergeben sich folgende Verlaufsformen:

$$\begin{aligned} 1.\ y &= (1 - 1)\, m_a \,.\, t \,.\, k_1 + k_2 \\ y &= 0 \,.\, m_a \,.\, t \,.\, k_1 + k_2 \\ y &= k_2 \end{aligned}$$

d. h. für den Fall, daß Zufluß und Abfluß einander gleich sind, läuft y *parallel* zur Abszissenachse, *der Spiegel ist unabhängig von der Zeit.*

$$\begin{aligned} 2.\ y &= (\text{Zahl} > 1 - 1) \,.\, m_a \,.\, t \,.\, k_1 + k_2 \\ y &= (\textit{positive Zahl}) \,.\, m_a \,.\, t \,.\, k_1 + k_2 \end{aligned}$$

[1]) *Pick* und *Hashimoto*, a. a. O.: *Freund* und *Laubender*, a. a. O.; *Freund* und *Rupp*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **99**, H. 3/4, S. 137 bis 142, 1923; *Gottschalk*, ebendaselbst **96**, 260, 1923.

[2]) Die hier aufgestellte Funktion gilt für den theoretisch einfachsten Fall, daß die Volumenzu- oder -abnahme sich nur in *einer* Dimension auswirken kann. Auf das Beispiel des Wasserbehälters übertragen ist die Gleichung nur zutreffend für einen Behälter mit senkrecht aufsteigenden Seitenwänden (zylindrisch, prismatisch usw.)

d. h. für den Fall, daß der Zufluß den Abfluß überwiegt, stellt y eine *aufsteigende* Gerade dar, *der Spiegel steigt proportional mit der Zeit.*

$$3.\quad y = (\text{Zahl} < 1 - 1) \cdot m_a \cdot t \cdot k_1 + k_2$$
$$y = (\textit{negative Zahl}) \cdot m_a \cdot t \cdot k_1 + k_2$$

d. h. für den Fall, daß der Abfluß den Zufluß überwiegt, stellt y eine *absteigende* Gerade dar, *der Spiegel fällt proportional der Zeit.*

Wenn wir nun durch unsere Untersuchungen zu irgend einem Zeitpunkt unter einer bestimmten Einwirkung eine Erhöhung des Reststickstoffspiegels in der Leber finden, können wir mit Sicherheit nur schließen, daß für eine gewisse Zeit das Verhältnis m_z/m_a größer als 1 war. Mit anderen Worten: wir können sagen, daß die in der Norm bestehende Gleichheit zwischen Zufluß und Abfluß sich verschoben hat zu einem Mißverhältnis zwischen Zustrom und Abstrom. Ob aber dieses Mißverhältnis auf einer Erhöhung des Zustroms oder einer Verminderung des Abstroms beruht, können wir durch diese Untersuchungen nicht entscheiden. Und wenn sich gar beide Größen in demselben Sinne ändern, sind wir über das Tempo, in dem die Abbauvorgänge im Organ stattfinden, gänzlich unorientiert. Auch die Kenntnis des Harn-N als dem Sammelpunkt der Abbauprodukte ändert die Sachlage nur zum Teil, da die Möglichkeit besteht, daß die in der Leber entstehenden Eiweißabbauprodukte zur weiteren Ausnutzung nach anderen Organen hin transportiert werden, aus denen die Schlacken nur langsam und verzögert wieder zum Vorschein kommen.

Aus diesen Betrachtungen folgt, daß wir aus einer Erhöhung des Rest-N-Spiegels in der Leber zunächst nur auf ein Mißverhältnis innerhalb des Abbaugetriebes schließen können. Wir ermitteln durch derartige Untersuchungen nur die Bedingungen, unter denen ein solches Mißverhältnis zustande kommt.

II. Versuche bei einem Druck von 330 bis 280 mm Hg.

Bei einem Druck von 430 bis 380 mm Hg konnten wir keine wesentliche Veränderung des prozentualen Rest-N-Gehalts der Leber nachweisen, obwohl Veränderungen im Eiweißstoffwechsel aus den Harn- und Blutbefunden gefolgert werden mußten. Es erhob sich die Frage, ob ein Sauerstoffmangel noch höheren Grades diesen Effekt hervorbringe. Wir suchten deshalb den Sauerstoffmangel bis an die Grenze des für unsere Tierart überhaupt noch erträglichen Ausmaßes zu steigern. Nach unseren Beobachtungen muß man für Meerschweinchen einen Luftdruck von 280 mm Hg, das entspricht einer Berghöhe von rund 8000 m, im allgemeinen als das Minimum bezeichnen. Ein noch stärkerer Sauerstoffentzug ist nur bei einzelnen Individuen dieser Tierart auf die Dauer mit dem Leben verträglich.

Die unter so niedrigem Luftdruck gehaltenen Tiere verhielten sich nun schon bei der reinen Beobachtung anders als die der mäßigen

Luftdruckerniedrigung ausgesetzten. Während wir hier außer einer gewissen Schläfrigkeit bei völlig erhaltener Freßluft nichts Belangvolles sahen, zeigten die bei einem Luftdruck von 330 bis 230 mm Hg gehaltenen Tiere oft tiefe Benommenheit, was in der Reaktionslosigkeit auf äußere Reize, wie eingeworfenes Futter usw., zum Ausdruck kam. Diese Benommenheit steigerte sich bisweilen bis zur völligen Bewußtlosigkeit, so daß die Tiere sich zur Seite fallen ließen und die Beine starr von sich streckten. Wenn sie sich wieder erhoben, beobachteten wir häufig Muskelzittern und Muskelzuckungen klonischer Art. Außerdem waren fast sämtliche Tiere freßunlustig, so daß sie nur ganz geringe Mengen Futter verzehrten. Dieser ganze Symptomenkomplex ähnelt außerordentlich dem bei der sogenannten „toxischen" Form der Bergkrankheit (Benennung der französischen Autoren) beschriebenen.

Wir untersuchten bei diesen Tieren nicht den zeitlichen Ablauf der Stickstoffverhältnisse in der Leber. Es war uns hier zunächst nur um die Frage zu tun, ob der hochgradige Sauerstoffentzug überhaupt zu einem Effekt im obigen Sinne führe oder nicht. Ein Verweilen von 48 Stunden unter den angegebenen Bedingungen schien für die Beurteilung dieser Frage eine genügend lange Zeitdauer. Es ist nicht verwunderlich, daß ein Teil der Tiere innerhalb dieser Zeitdauer schon zugrunde ging. Wir haben auch diese Tiere mit in die Untersuchung einbezogen; die Werte sind in den Tabellen VI und VII gesondert von den Werten der entbluteten Tiere zusammengefaßt. Da die durch den Sauerstoffmangel gewissermaßen langsam vergifteten Tiere, wie eben erwähnt, nur ganz unbedeutende Futtermengen zu sich nahmen, wählten wir als Vergleichstiere solche, die einem absoluten Hunger von 48 Stunden bei normalem (Davoser) Luftdruck ausgesetzt waren. Die Ergebnisse sind in den Tabellen V, VI, VII, VIII und IX mitgeteilt.

Tabelle V. Hungertiere.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Futter: Karotten g	Versuchsdauer Stdn.	Gesamt-N in 1 g Leber mg	Rest-N I in 1 g Leber mg	Rest-N II in 1 g Leber mg	Rest-N I in Proz. des Gesamt-N	Rest-N II in Proz. des Gesamt-N	P.-Fr. in Proz. des Gesamt-N
Meerschweinchen Nr. 14, 650,0 bis 580,0 g . .	—	48	33,50	4,06	1,92	12,13	5,72	6,41
Meerschweinchen Nr. 18, 230,0 bis 180,0 g . .	—	48	34,11	4,95	2,68	14,51	7,86	6,65
Meerschweinchen Nr. 21, 280,0 bis 230,0 g . .	—	48	35,59	4,56	2,25	12,87	6,33	6,54
					Durchschnitt:	13,17	6,64	6,53

Tabelle VI.

Tiere bei einem Luftdruck von 330 bis 230 mm Hg.

a) Gestorbene Tiere.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Futter: Karotten g	Versuchsdauer Stdn.	Gesamt-N in 1 g Leber mg	Rest-N I in 1 g Leber mg	Rest-N II in 1 g Leber mg	Rest-N I in Proz. des Gesamt-N	Rest-N II in Proz. des Gesamt-N	P.-Pr. in Proz. des Gesamt-N
Meerschweinchen Nr. 16, 240,0 bis 200,0 g . .	15,0	36	26,19	4,68	2,38	17,86	9,10	8,76
Meerschweinchen Nr. 25, 250,0 bis 230,0 g . .	10,0	22	26,42	4,96	3,09	18,79	11,72	7,07
					Durchschnitt:	18,33	10,41	7,92
Meerschweinchen Nr. 26, 270,0 bis 240,0 g . .	25,0	38	27,14	3,50	2,24	12,89	8,24	4,65
b) Überlebende Tiere.								
Meerschweinchen Nr. 12, 290,0 bis 250,0 g . .	5,0	48	30,82	5,21	2,76	16,92	8,94	7,98
Meerschweinchen Nr. 17, 220,0 bis 170,0 g . .	15,0	48	30,50	4,83	2,63	15,85	8,61	7,24
					Durchschnitt:	16,39	8,78	7,61
Meerschweinchen Nr. 19, 400,0 bis 340,0 g . .	20,0	48	27,60	3,40	1,86	12,34	6,73	5,61

Tabelle VII.

Zusammenstellung der Mittelwerte.

	1	2	3
	Gesamter Rest-N in Proz. des Gesamt-N	Pepton-N in Proz. des Gesamt-N	Harnstoff-, Amino- usw.-N in Proz. des Gesamt-N
Gestorbene Tiere bei einem Luftdruck von 330 bis 230 mm Hg	18,3	7,9	10,4
Überlebende Tiere bei einem Luftdruck von 330 bis 230 mm Hg	16,4	7,6	8,8
48 Stunden Hungertiere normaler Luftdruck von 630 mm Hg	13,2	6,5	6,7
Normaltiere normaler Luftdruck von 630 mm Hg	10,2	4,0	6,2

Anmerkung: Für Stab 1 vergleiche Stab 7 der Tabellen I, V und VI.
„ „ 2 „ „ 9 „ „ I, V und VI,
„ „ 3 „ „ 8 „ „ I, V und VI.

Tabelle VIII.

Hungertiere.

		Versuchsdauer Stdn.	Zucker in 100 g Blut mg	Rest-N in 100 g Blut mg
Meerschweinchen	Nr. 14	48	129,1	34,2
„	Nr. 18	48	88,9	44,8
„	Nr. 21	48	94,9	38,4
		Durchschnitt:	**104,3**	**39,1**

Tabelle IX.

Tiere bei einem Luftdruck von 330 bis 230 mm Hg.

		Versuchsdauer Stdn.	Zucker in 100 g Blut mg	Rest-N in 100 g Blut mg
Meerschweinchen	Nr. 12	48	119,7	66,1
„	Nr. 17	48	80,0	52,7
„	Nr. 19	47	115,7	46,5
		Durchschnitt:	**105,1**	**55,1**

Die 48-Stunden-Hungertiere zeigen ähnliche Reststickstoffwerte in der Leber wie die Tiere nach einer Unterfütterungsperiode von 48 bis 72 Stunden, d. h. starkes Ansteigen des prozentualen Anteils des Reststickstoffs (Fraktion I) am Gesamt-N, geringes Ansteigen des prozentualen Anteils der zweiten Fraktion, Verbreiterung der Peptonfraktion. Die Erklärung für dieses Verhalten deckt sich wohl mit der oben gegebenen, d. h. wir müssen darin den Ausdruck einer *Hungerautolyse* erblicken.

Die Untersuchungsergebnisse der Leberstickstoffverhältnisse bei den unter einem Druck von 330 bis 230 mm Hg gehaltenen Versuchstieren sind folgende:

Der *Gesamt-N* pro Gramm Lebersubstanz liegt sehr viel niedriger als bei den Vergleichstieren, und zwar bei den zugrunde gegangenen noch viel niedriger als bei den entbluteten. Aus diesem Abnehmen des Gesamt-N pro Gramm Leber auf eine Verminderung des Gesamteiweißes im Organ zu schließen, ist nur unter großem Vorbehalt berechtigt, da — wie oben erörtert — diese Art der Untersuchung gewissermaßen eine Konzentrationsbestimmung des Eiweißes darstellt. So erklärt sich wohl auch der Unterschied zwischen den zugrunde gegangenen und den entbluteten Tieren großenteils dadurch, daß bei den ersteren die in der Leber vorhandene und mit verarbeitete Blutmenge eine weitere Verdünnung bewirkt.

Bevor wir an die Besprechung der Rest-N-Werte unter dem Einfluß des hochgradigen O_2-Mangels herangehen, müssen wir kurz zweier Ausnahmen Erwähnung tun, die in die Tabelle VI mit aufgenommen sind. Meerschweinchen Nr. 26 gehört eigentlich nicht unter die Rubrik der unter dem Einfluß des O_2-Mangels gestorbenen Tiere, da dasselbe einige Stunden vor Beendigung des Versuchs einem Unglücksfall zum Opfer fiel. Es zeigt im ganzen ähnliche Rest-N-Werte wie Meerschweinchen Nr. 19. Diese Rest-N-Werte fallen ihrer Größenordnung nach etwa in den Bereich der Hungertierwerte. Daraus geht hervor, daß selbst bei so hochgradigem Sauerstoffmangel einzelne Individuen unbeeinflußt bleiben, ein Verhalten, das sich mit den Beobachtungen am Menschen bei großen Höhen völlig deckt. Die beiden Versuchstiere Nr. 19 und 26 sind deshalb in die Berechnung der Durchschnittszahlen nicht mit aufgenommen worden.

Um einen besseren Überblick über die Größe des Rest-N und seine Zusammensetzung zu gewinnen, haben wir die Durchschnittszahlen der Rest-N-Werte gesondert von allem übrigen in Tabelle VII zusammengefaßt.

Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß der gesamte Rest-N bei den *überlebenden* Tieren um 60,8 Proz. (von 10,2 auf 16,4) gegen die Norm gestiegen ist, während er bei den hungernden Vergleichstieren nur um 29,4 Proz. (von 10,2 auf 13,2) stieg. Bei den an den Folgen des O_2-Mangels *gestorbenen* Tieren zeigt sich sogar eine Steigerung um 79,4 Proz. gegen die Norm. O_2-Mangel, entsprechend einem Luftdruck von 330 bis 230 mm Hg, plus Hunger steigern also den Rest-N-Spiegel in der Leber ganz erheblich mehr als Hunger allein. Dabei scheint eine Proportionalität zu bestehen zwischen der Größe der deletären Wirkung und der Höhe des Spiegels.

Auch in die *Art* der *Zusammensetzung* des *Rest-N-Gehaltes* der Leber scheint der hochgradige O_2-Mangel in charakteristischer Weise einzugreifen. Während bei den normalen Hungertieren der Pepton-N um 62,4 Proz. und der Harnstoff-, Amino- usw.-N nur um 6,5 Proz. gegen die Norm vermehrt ist, finden wir bei den „hochverdünnten" überlebenden Tieren im Pepton-N eine Steigerung von 90,0 Proz., und im Harnstoff-, Amino- usw.-N eine solche von 41,9 Proz. gegen die Norm. Mit anderen Worten, bei der durch O_2-Mangel hervorgerufenen Spiegelerhöhung ist der Pepton-N nur etwa um die Hälfte mehr als durch 48stündigen Hunger erhöht; der Harnstoff-, Amino- usw.-N dagegen um das Vierfache. Dieser Befund verschärft sich noch, wenn wir die Prozentzahlen der gestorbenen Tiere betrachten: bei diesen ist der Pepton-N gesteigert um 97,5 Proz., der Harnstoff-, Amino- usw.-N um 67,7 Proz.; d. h. die Erhöhung des letzteren beträgt nochmals die Hälfte mehr als bei den überlebenden, und über das Acht-

fache mehr als bei den Hungertieren. Die Vermehrung des Pepton-N fällt dagegen nicht in die Wagschale. Die Wirkung des O_2-Mangels auf die Zusammensetzung des Rest-N in der Leber drückt sich demgemäß im Gegensatz zu der Hungerwirkung hauptsächlich in einer Verbreiterung der Harnstoff-, Amino- usw.-N-Fraktion aus.

Es ist nicht ohne Interesse, daß sich in der Leber solcher Tiere mikroskopisch degenerative Veränderungen, wie Verfettung, trübe Schwellung, Aufhebung der Zellstruktur usw. nachweisen lassen. Das haben schon die älteren Untersuchungen von *Lewinstein* und *H. v. Schrötter*[1]) bezeigt. Wir konnten die Richtigkeit dieser Befunde in Stichproben bestätigen[2]).

Unsere Befunde stützen also die Annahme einer weitgehenden Analogie zwischen der Wirkung des hochgradigen O_2-Mangels und der der Phosphorvergiftung auf den Eiweißabbau in der Leber.

Über das Verhalten des *Rest-N im Blute* bei diesen Tieren (Tabelle IX) läßt sich folgendes sagen: Im Durchschnitt findet sich ein deutlich höherer Rest-N-Wert als bei den Hungertieren (Tabelle VIII) Dieser Wert überragt auch den Rest-N-Gehalt des Blutes derjenigen Tiere, die einem gelinderen Sauerstoffmangel ausgesetzt waren (Tabelle IV). Doch bewegt sich die Größe des Rest-N innerhalb solcher Grenzen, daß vom Vergleich mit urämischen Zuständen wohl nicht die Rede sein kann. Für die Erklärung der „toxischen" Form der Bergkrankheit als einer Urämie, als die sie einige Autoren aufzufassen geneigt sind[3]), liegen nach diesen Befunden keine Gründe vor.

Betrachten wir zum Schluß die Ergebnisse der *Blutzuckerwerte* bei verschiedengradigem Sauerstoffmangel, so können wir sagen, daß von einer deutlichen Wirkung des O_2-Mangels auf den Zuckerspiegel im Blute nichts zu verzeichnen ist[4]). Wir fanden zwar bei einem Luftdruck von 430 bis 380 mm Hg häufig niedrige Blutzuckerwerte. Doch ist der Durchschnitt der gesamten Zahlen (Tabelle IV) zu wenig vom normalen Durchschnitt (Tabelle III) verschieden, um sicher verwertbar zu sein. Der durchschnittliche Zuckerwert der bei einem Druck von 330 bis 230 mm Hg gehaltenen Versuchstiere (Tabelle IX) deckt sich fast völlig mit demjenigen der Hungertiere (Tabelle VIII). Es erscheint jedoch auch der negative Befund in unserem Falle von Be-

[1]) *G. Lewinstein*, Pflügers Arch. **65**, 278, 1896; *H. v. Schrötter*, Wien. med. Wochenschr. 1902.

[2]) Für die Anfertigung der mikroskopischen Präparate sei Herrn Dr. *A. Kamsler* auch an dieser Stelle herzlichst gedankt.

[3]) *R. Moog*, C. r. des séanc. de la soc. de biol. **73**, 131, 1912.

[4]) Hierdurch wird gleichzeitig ein Irrtum richtiggestellt, der uns in der vorläufigen Mitteilung: Schweiz. Med. Wochenschr. Nr. 33, 1925, unterlaufen ist.

deutung, da durch vielfache Untersuchungen festgestellt ist[1]), daß der Blutzuckerspiegel bei der Phosphorvergiftung sich dauernd erniedrigt.

Da sich aus der ganzen Anlage der vorliegenden Arbeit die Notwendigkeit ergeben hat, die Blutzuckerwerte an verschiedenen Individuen zu gewinnen, können wir bei der verhältnismäßig großen individuellen Schwankung des Zuckerspiegels nur gröbere Veränderungen ausschließen. Für das Studium feinerer Veränderungen müßte man wohl fortlaufende Zuckerbestimmungen bei demselben Individuum fordern.

Zusammenfassung.

Die Ergebnisse unserer an Meerschweinchen gewonnenen Untersuchungen lassen sich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1. Sowohl der 48stündige Hunger wie die protrahierte Unterfütterung führen als solche zu einer Erhöhung des Rest-N in der Leber, von 10,2 Proz. der Norm auf 12,1 bis 14,9 Proz., die im wesentlichen auf einer Vermehrung der Peptone beruht (+ 62,4 Proz.).

2. Sauerstoffmangel, entsprechend einem Luftdruck von 430 bis 380 mm Hg, läßt den Rest-N-Spiegel in der Leber unverändert.

3. Sauerstoffmangel, entsprechend einem Luftdruck von 330 bis 230 mm Hg, kann zu einer Erhöhung des Rest-N-Spiegels der Leber auf 15,9 bis 18,8 Proz. gegen 12,1 bis 14,5 Proz. bei Hungertieren gleicher Zeitdauer führen. Diese Erhöhung gegenüber dem Hunger beruht hauptsächlich auf einer Vermehrung des Harnstoff-, Amino- usw.-N (+ 55 Proz. im Mittel), während der Pepton-N viel weniger zunimmt (+ 20 Proz.).

4. Der Rest-N-Spiegel im Blute steigt mit zunehmendem O_2-Mangel in nur mäßigem Grade.

5. Der Zuckerspiegel im Blute erleidet auch bei hochgradigem O_2-Mangel keine grobe Veränderung.

Am Schlusse dieser beiden Mitteilungen möchte ich nicht versäumen, dem Leiter des hiesigen Instituts, Herrn Prof. Dr. *A. Loewy*, für seine vielfache Anregung und stets tatkräftige Unterstützung bei dieser Arbeit meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

---

[1]) Z. B. *Neubauer* und *Porges*, diese Zeitschr. **32**, 290; *Frank* und *Isaac*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **64**, 274.

Einfluß der Narkotica auf die Oberflächenspannung.

Von

Esther Czanik.

(Aus dem physikalischen Institut der k. ungar. Tierärztlichen Hochschule in Budapest.)

(Eingegangen am 22. September 1925.)

Mit 14 Abbildungen im Text.

Der Fortschritt der modernen ärztlichen Wissenschaften wird in immer größerem Maße durch die Anwendung der exakten physikalischen Meßmethoden beeinflußt. Die komplizierten und rätselhaften Erscheinungen des Organismus, welche sich in den Zellen abspielen, können oft nur derart untersucht werden, daß wir diese Erscheinungen mit einer dem Ziele der Untersuchung entsprechenden und leicht reproduzierbaren, einfachen physikalischen oder chemischen Erscheinung vergleichen, da bei letzteren die beobachtbaren Gesetzmäßigkeiten meistens auch in mathematischer Form darstellbar sind.

Auf diese Weise sind seit Mitte des 19. Jahrhunderts zur Erklärung des Mechanismus der Narkose mehrere Theorien entstanden, welche immer mit Hilfe eines geeigneten physikalischen oder chemischen Bildes jene Erscheinungen zu erklären trachten, welche sich durch Einfluß der Narkotica im Organismus abspielen. Unter diesen vielen Theorien gewinnt jene Ansicht immer mehr Raum, welche zuerst von *Traube* und seinen Schülern und in neuerer Zeit am stärksten von *Winterstein* vertreten wurde. Nach dieser Theorie wäre der wichtigste Faktor der Narkose die Oberflächenspannung verringernde Wirkung und der geringe *Haftdruck* der Narkotica. Auf dieser Grundlage ist die leichte Eindringbarkeit und Adsorbierbarkeit der Narkotica in der Zelle erklärlich, wodurch die normalen Grenzflächeneigenschaften der Zelle verändert werden.

In der vorliegenden Arbeit untersuchte ich in der wässerigen Lösung verschiedener, hauptsächlich basischer Narkotica die Änderung der Oberflächenspannung mit der Konzentration.

Die Oberflächenspannung von Alkaloidlösungen bzw. durch den Einfluß äußerer, sekundärer Gründe (Stehenlassen, Temperaturerhöhung, Alkalizusatz usw.) hervorgerufenen Änderungen derselben wurden hauptsächlich von *Traube* (1), *Traube* und *Onodera* (2), *H. Tschernorutzky* (3), *Berczeller* und *Csáki* (4), *Berczeller* und *Seiner* (5) gemessen, aber niemals berechneten diese den Wert der Oberflächenspannung in absoluten Einheiten, sie nahmen nur die Änderung der Tropfenzahl in Betracht.

Die Resultate dieser Messungen bestätigen alle die Richtigkeit der *Traube*schen Theorie. *Traube* und seine Mitarbeiter fanden nämlich, daß

1. die Giftigkeit der Lösungen mit der Verringerung der Oberflächenspannung zunimmt; ferner daß

2. die freien Basen die σ des Wassers in viel stärkerem Maße vermindern, als die Alkaloidsalze, und daß

3. durch Zusatz von Alkalien (Na_2CO_3, KOH usw.) sowie von Salzen NaCl, KCl usw.) die Aktivität der Alkaloidsalzlösungen zunimmt, und daß die physiologische Wirkungsstärke hiermit parallel, *synbat*, verläuft.

Die Änderung der Tropfenzahl mit der Konzentration betreffend, machten *Berczeller* und *Seiner*[1]) Messungen an Chininum hydrochloricum, Cocainum hydr. usw. Sie fanden — ebenso wie *Traube* und *Onodera*[1]) bei ihren ähnlichen Messungen an Atropin —, daß mit der Verringerung der Konzentration die Tropfenzahl stetig abnimmt, also die σ sich bei der Zunahme der Konzentration beständig vermindert.

Die ganz allgemein benutzte Meßmethode entspricht nicht genau jenen Erscheinungen, welche sich im Organismus abspielen. Zwar ist die Oberflächenspannung, die an der Grenzfläche einer Flüssigkeit und der Zelle auftritt, nicht bestimmbar, da die experimentellen Schwierigkeiten unüberwindbar sind, doch können die entsprechenden Verhältnisse wenigstens annähernd dadurch bestimmt werden, daß wir das Protoplasma der Zelle und den umgebenden Zellsaft als zwei miteinander nicht (oder wenigstens nicht in jedem Verhältnis) mischbare Flüssigkeiten betrachten. Die Oberflächenspannung solcher Flüssigkeitspaare ist experimentell verhältnismäßig leicht bestimmbar. Im weiteren Verlauf der Untersuchung ging ich deshalb auf die Bestimmung der Oberflächenspannung und deren Änderung mit der Konzentration von wässerigen Lösungen an der Grenzfläche gegen eine mit der ersteren nicht mischbaren Flüssigkeit über. Als solche benutzte ich Paraffinöl oder Nitrobenzol, obgleich auf Grund der sogenannten *Lipoidtheorie* in erster Reihe Lipoide (Lecithin, Cholesterin usw.) zu untersuchen gewesen wären, doch sind diese zum Zwecke der Untersuchung als nicht flüssige Körper ungeeignet. Lecithinemulsionen konnten auch nicht angewendet werden, da dieselben schon an sich zweiphasige Systeme bilden. Olivenöl benutzte ich nicht, weil es zersetzlich ist; die entstehenden Fettsäuren bilden mit den in Spuren immer vorhandenen Alkalien Seifen, welche die Oberflächenspannung in sehr großem und mit der Reaktion der Lösung veränderlichem Maße verringern. Statt dieser wählte ich als unveränderliche Substanzen Paraffinöl und Nitrobenzol.

Den Zweck meiner Untersuchungen kann ich in den folgenden drei Punkten zusammenfassen:

1. Ich wollte feststellen, ob die Oberflächenspannungs- bzw. Grenzflächenspannungskurven der wässerigen Lösungen der Narkotica

[1]) l. c.

tatsächlich einen Wendungspunkt besitzen, d. h. ob es wirklich einen Unterschied gibt im Verhalten dieser wichtigen physikalischen Konstanten in dem Gebiete der kleinen und großen Konzentrationen? Die Untersuchung vor *Joel* (6) über die durch Narkotica verursachten Veränderungen der elektrischen Leitfähigkeit von Zellen und die stalagmometrischen Messungen von *Lillie* und *Clowes* weisen auf ein solches Verhalten.

2. Sind die beobachtbaren Änderungen der Oberflächenspannung und der Grenzflächenspannung parallel oder nicht?

3. Wie verhalten sich in Anbetracht der Oberflächenaktivität solche Stoffe — *lähmende* und *erregende* —, die entgegengesetzte pharmakologische Wirkungen besitzen?

Einige ähnliche Messungen wurden vor mir schon von Dr. *O. Lóránt*, gewesenem Assistenten, und von Frau Dr. *Sz. Éva Keresztes*, gewesenem Praktikanten des physikalischen Instituts, gemacht, ihre Resultate aber nicht publiziert. Da diese mit den meinen ziemlich gut übereinstimmen, teile ich ihre Ergebnisse in meiner Abhandlung mit. Die Bestimmung der Oberflächen- und der Grenzflächenspannung geschah bei ihnen so, wie bei mir: nach der Methode des fallenden Tropfens mit dem Stalagmometer von *Traube*. Aus dem Tropfengewicht und den Abmessungen des Stalagmometers wurde jede Messung mit Hilfe der *Kohlrausch*schen Formel in *absolutes* Maß: dyn/cm, umgerechnet. Nach dieser Formel ist der Koeffizient der Oberflächenspannung

$$\sigma = \frac{q}{r \cdot \Phi\left(\frac{r}{a}\right)} = \frac{v \cdot s}{n \cdot r \cdot \Phi\left(\frac{r}{a}\right)}.$$

In obiger Formel bedeutet q das Gewicht eines Tropfens in der Luft bzw. in der zweiten Flüssigkeit, in welche der Tropfen fällt. Dieses ist aus dem Volumen v des Stalagmometers, aus dem spezifischen Gewicht s der wässerigen Lösung[1]) und aus der Tropfenzahl n berechenbar. r bedeutet den äußeren Radius der Kapillarröhre des Stalagmometers am Orte des Tropfenentstehens; schließlich $\Phi\left(\frac{r}{a}\right)$ den von dem Verhältnis des Radius r und der spezifischen Kohäsion a $\left(= \sqrt{\frac{2\sigma}{s}}\right)$ abhängigen numerischen Faktor, welchen *Kohlrausch* (7) aus den experimentellen Ergebnissen von *Rayleigh* und anderen, *Lohnstein* (8) hingegen auf theoretischem Wege aus der Form der Tropfen für verschiedene Werte r/a bestimmt hat.

---

[1]) Fällt der Tropfen in eine zweite Flüssigkeit, so nimmt man nach *Archimedes*' Gesetz die Differenz der beiden spezifischen Gewichte in Betracht.

Um den bei der Herstellung der Lösung auftretenden Fehler zu vermindern, nahm ich bei meinen Messungen meistens zuerst konzentrierte Lösungen und stellte aus diesen durch gradweise Verdünnung weniger konzentrierte Lösungen her.

Bei der Feststellung des Wertes σ kommt als Fehlerquelle einesteils der Fehler der Bestimmung der Tropfenzahl, anderenteils der der Bestimmung des spezifischen Gewichts in Betracht.

Um die erste Fehlerquelle möglichst auszuschalten, wurde jede einzelne Konzentration öfters (vier-, fünfmal) abgetropft, ferner jede Messungsserie mit neuen Lösungen wiederholt. Die Tropfenzahl bei den aufeinander folgenden Abtropfungen einer Lösung ein und derselben Konzentration zeigte die maximale Differenz von 1 bis 2 Tropfen, je nachdem zwischen der dynamischen und statischen Spannung eine größere oder kleinere Differenz auftrat[1]). Die Mittelwerte der auf eine Lösung bezüglichen Messungsserien zeigten eine Differenz von nur $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ Tropfen.

Z. B. für eine 0,4proz. wässerige Lösung von *Morphinum hydrochloricum* in *Nitrobenzol* getropft, erhielt ich für die Tropfenzahl n folgende Werte:

in der I. Serie	$n = 79{,}5,$	79,	79,	79;	Mittelwert	79,13
„ „ II. „	$n = 79,$	78,75,	78,75,	78,75;	„	78,8

die Abweichung der Mittelwerte ist also: $dn = \frac{1}{3}$ Tropfen, d. h. der *relative maximale Fehler*

$$\frac{dn}{n} = \frac{0{,}33}{79} = 0{,}004 \sim 0{,}4 \text{ Proz.},$$

so daß der durchschnittliche experimentelle Fehler bei der Bestimmung der Tropfenzahl kleiner als 1 Proz. war und nur ausnahmsweise bis 3 Proz. stieg.

Die zweite Hauptfehlerquelle tritt bei der Bestimmung des spezifischen Gewichts auf. Diese Messung geschah mit dem Pyknometer mit einer Genauigkeit von 0,6 bis 0,1 Proz. Bei genauen Messungen wird das spezifische Gewicht auf 4° C und Vakuum reduziert. Wir können jedoch von der Reduktion absehen, da der dadurch entstehende Fehler verschwindend klein ist. Z. B. bei *Atropinsulfat*lösung + *Luft* ergibt sich durch Vergleich nach Durchführung der Reduktion für verschiedene Konzentrationen, daß die maximale Abweichung der mit

[1]) Schon *Traube* und *Onodera* (l. c.) fanden, daß zwischen der Oberflächenspannung von frischen und abgestandenen Lösungen in einzelnen Fällen eine Abweichung von 1 bis 2 Proz. auftritt.

Reduktion berechneten Werte σ von den ohne Reduktion berechneten Werten σ

$$d\sigma = 0{,}14 \text{ dyn/cm}.$$

ist. Nimmt man also die durch Temperatur auftretende Änderung des spezifischen Gewichts und den Auftrieb der Luft nicht in Betracht, so ist der *relative maximale Fehler* bei der Berechnung von σ

$$\frac{d\sigma}{\sigma} = \frac{0{,}14}{70} = 0{,}002 \sim 0{,}2 \text{ Proz.}$$

und dieser ist unter den gegebenen Umständen vernachlässigbar klein.

Meine Untersuchungen beziehen sich auf *Morphin*, *Cocain*[1]), *Chloralhydrat*, *Amylnitrit*[1]), *Phenol*[2]), *Atropin*, *Hyoscyamin* als lähmende und *Coffein*, *Pikrotoxin*, *Strychnin*, *Pilocarpin*[2]) als entgegengesetzt wirkende (reizende, krampferregende) Narkotica. Die Ergebnisse sind in den nachstehenden Tabellen zusammengefaßt. Die in den Abbildungen mit I, II, III bezeichneten Kurven beziehen sich auf die Konzentrationsänderung der Oberflächenspannung der wässerigen Lösung desselben Narkoticums an der Grenzfläche Luft, Paraffinöl bzw. Nitrobenzol.

I. Narkotica.

1. *Morphinum hydrochloricum* vermindert die Oberflächenspannung und Grenzflächenspannung des Wassers bei Zunahme der Konzentration stetig, aber in sehr geringem Maße. Die Tropfenzahl, also die Aktivität der Lösungen, ändert sich ebenfalls stark durch Stehenlassen. Z. B. die Tropfenzahl bei einer Lösung von 0,4 Proz. in Nitrobenzol getropft, wuchs nach 24stündigem Stehen von $79^1/_8$ auf 82,75, dementsprechend nahm der Wert der Grenzflächenspannung von 26,87 dyn/cm bis 25,78 dyn/cm ab, d. h. ungefähr um 4 Proz. Deshalb wurde das Tropfen möglichst bald nach der Herstellung der Lösung vollzogen, um immer dieselbe Spannung — nämlich die dynamische — messen zu können.

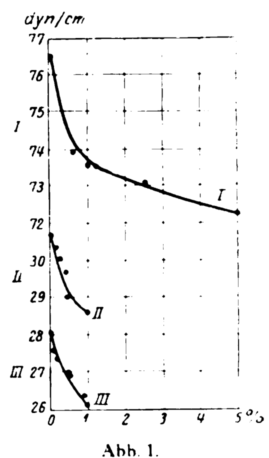


Abb. 1.

2. *Cocainum hydrochloricum* vermindert die Oberflächenspannung des Wassers gleichfalls in sehr kleinem Maße, im Falle der Systeme Wasser—Paraffinöl, Wasser — Nitrobenzol jedoch wächst seine Aktivität beträchtlich.

---

[1]) Daten von Dr. *O. Lóránt*.

[2]) Daten von Frau Dr. *Sz. Éva Keresztes* (teilweise die auf *Coffein* bezüglichen ebenfalls).

Tabelle I.

Morphinum hydrochloricum (siehe Abb. 1.)

Konzentration Proz.	+ Luft			+ Paraffinöl			+ Nitrobenzol		
	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.
0	33,0	76,55		18	30,68		76	28,08	
0,1							77,5	27,54	2
0,125				18,25	30,39	1			
0,2							77,9	27,36	2,5
0,25		75,50*)	1,3	18,5	30,06	2		27,2*)	3,1
0,4							78,8	26,98	3,9
0,5				19,3	29,01	5	78,94	26,92	4,1
0,6	33,0	73,92	3,4						
0,8							80,5	26,38	6
1,0		73,65*)	3,7	19,8	28,63	6,6	81,1	26,1	7
1,25	33,2	73,59	3,8						
2,5	33,5	73,12	4,4						
5,0	34,0	72,26	5,5						

*) ist aus der (σ, c) Kurve interpoliert.

Also vermindert 1proz. Lösung von Morph. hydr. die σ von

Wasser—Luft . . . . um 3,7 Proz.
Wasser—Paraffinöl . . . . „ 6,6 „
Wasser—Nitrobenzol . . . . „ 7,0 „

Tabelle II.

Cocainum hydrochloricum (siehe Abb. 2).

Konzentration Proz.	+ Luft			+ Paraffinöl			+ Nitrobenzol		
	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.
0	33	76,55		65	38,69		77,6	26,80	
0,018							78,2	26,60	0,7
0,037							80,8	25,74	3,9
0,075				74	35,12	9,2	85,6	24,38	9,0
0,15				74,7	34,94	9,6	89,5	23,88	10,8
0,25		74,5*)	2,6		34,3*)	11,3		23,0*)	14,1
0,31				76,8	34,06	12,0	93,5	22,37	16,5
0,62	33,3	73,22	4,3	79,3	33,30	13,9	101,2	20,65	22,9
1,25	33,8	72,34	5,5	85,7	31,19	19,3	113	18,52	30,8
2,5	34,8	70,21	8,2	95	29,0	25,0	134	15,49	42,0
5,0	36,5	67,08	12,3	109,8	26,23	32,2	165	12,46	53,5
10,0	38,3	65,13	15						

*) ist aus der (σ, c) Kurve interpoliert.

Also vermindert 5proz. Lösung von Cocainum hydr. die σ von

Wasser—Luft . . . . um 12,3 Proz.
Wasser—Paraffinöl . . . . „ 32,2 „
Wasser—Nitrobenzol . . . . „ 53,5 „

3. *Chloralhydrat*, ein in die Fettreihe gehörendes Narkoticum, löst sich in Wasser ziemlich gut.

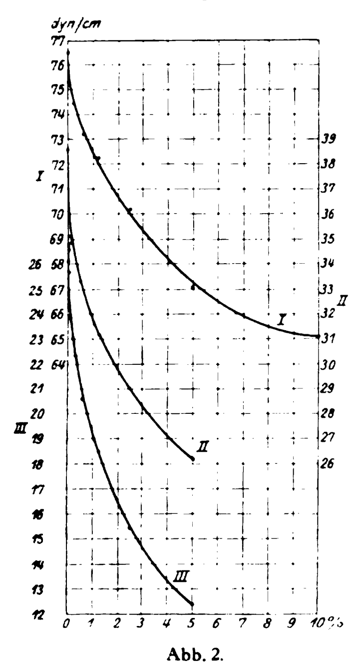


Abb. 2.

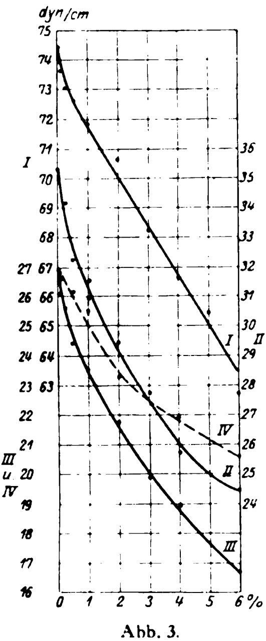


Abb. 3.
Die Kurve IV bezieht sich auf die Änderung der Grenzflächenspannung, welche bei dem System in physiologischer NaCl-Lösung gelöstes Chloralhydrat + Nitrobenzol auftritt.

Tabelle III.
Chloralhydrat (siehe Abb. 3).

Konzentration	+ Luft			+ Paraffinöl			+ Nitrobenzol			in physiolog. NaCl gelöst + Nitrobenzol	
	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung
Proz.			Proz.			Proz.			Proz.		Proz.
0	58,4	74,38		15.6	35,34		76,5	26,95		27,0	
0,05	58,75	73,93	0,6								
0,1	59	73,64	1				79	26,13	3	26,65	1.3
0,25	59,5	73,08	1,7	16,3	34,20	3,2	80,33	25,63	4,8		
0,5	60	72,6	2,4	17,5	32,29	8,6	84	24,45	9,2	26,19	3,0
1,0	60,8	71,83	3,4	18,25	31,54	10,7	86,4	23,55	12,6	25,96	4.0
2,0	62,2	70,66	5	20,34	29.47	16,5	91,6	21,77	19,2	23,29	13.7
3,0	64,75	68,26	8,2	22,3	27,8	21,3	98,5	19,88	26,2		
4,0	66,7	66,64	10,4	24,33	25,72	27,2	101,3	18,94	27,4	21,9	18,8
5,0	68,25	65,47	12	26,5	24,95	29,4	106,5	17,66	34,4		
6.0	70	62,75	15	27,9	24,46	30,7	109,75	16,73	38	20,57	23,8

Die Daten der vorletzten Kolumne zeigen die Grenzflächenspannung im Falle des Systems in physiologischer NaCl-Lösung gelöstes Chloralhydrat + Nitrobenzol; die Daten der letzten Kolumne zeigen die vermindernde Wirkung in Prozenten, auf Grund der Messungen von den Herren akademischen Hörern *Horváth* und *Binder* beruhend. Ihre auf den Wert der Grenzflächenspannung bezüglichen Ergebnisse unterscheiden sich von den Ergebnissen meiner analogen Messungen um 4 bis 1 dyn/cm. Der Grund dieses Unterschiedes ist in der Wirkung der von ihnen als Lösungsmittel benutzten physiologischen NaCl-Lösung zu suchen, welche — wie die anorganischen Salze überhaupt — den Wert der Grenzflächenspannung im Falle von Chloralhydratlösung + Nitrobenzol vergrößert. Während diese vergrößernde Wirkung bei reinen Salzlösungen nur einige Zehntel Prozent ausmacht, wächst sie bei einem Zusatz von 6proz. Chloralhydrat bis 14 Proz.

Anderenteils vermindert 6proz. Chloralhydrat die σ von

Wasser—Luft . . . . um 15 Proz.
Wasser—Paraffinöl . . . . „ 30,7 „
Wasser—Nitrobenzol . . . . „ 38 „

Ebenso ergibt sich aus den Daten der Herren *Horváth* und *Binder*, daß die Grenzflächenspannung bei den Systemen in physiologischer NaCl-Lösung gelöstes Trional bzw. Sulfonal und Urethan + Nitrobenzol durch Zunahme der Konzentration stetig abnimmt, wie die Tabelle IV zeigt.

Tabelle IV. Nitrobenzol + physiologische NaCl-Lösung (siehe Abb. 4.)

Konzentration	+ Trional		+ Sulfonal		+ Urethan	
Proz.	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.
0,025					27,01	
0,05					26,44	2,0
0,1	26,97	0,11	27,00		26,01	3,66
0,5	26,72	1,0	26,82	0,6	25,74	4,66
1,0	26,44	2,0	26,49	1,9	24,82	8,0
2,0	26,30	2,6	25,88	4,1	22,85	15,3
4,0	25,91	4,0	24,82	8,0	20,70	23,3
6,0	25,81	4,4			17,44	35,3

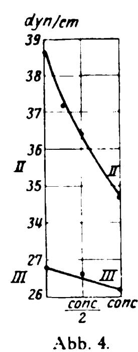


Abb. 4.

Von größter Aktivität ist das Urethan: durch Zusatz von 4 Proz. desselben in physiologischer NaCl-Lösung vermindert sich σ bei dem System Wasser + Nitrobenzol um 23,3 Proz. In derselben Konzentration ist die vermindernde Wirkung von Sulfonal 8 Proz., von Trional 4 Proz.

4. *Amylnitrit* löst sich in Wasser nur in Spuren. Eine konzentrierte Lösung desselben vermindert die σ von Wasser + Paraffinöl bzw. Wasser + Nitrobenzol um 10,2 Proz. bzw. um 2,2 Proz. Für dieselben Systeme ist bei halber Konzentration die vermindernde Wirkung 5,7 Proz. bzw. 0,4 Proz. (siehe Abb. 4).

5. *Phenol (Acidum carbolicum)* löst sich in Paraffinöl besser als in Wasser. Nach *Overton*[1]) ist der Verteilungskoeffi-

[1]) Studien über die Narkose. 1901.

zient desselben für $\frac{\text{Olivenöl}}{\text{Wasser}} = \frac{25}{7}$. Wird also eine wässerige Phenollösung mehrmals in Paraffinöl getropft, so verändert sich nach Durchschüttelung mit Paraffinöl die Tropfenzahl. Die Beschaffenheit dieser Änderung zeigt sich aus folgenden Ergebnissen:

Wurde konzentrierte[1]) wässerige Phenollösung in Paraffinöl getropft, so war die Tropfenzahl zuerst 427. Nach Durchschüttelung mit Paraffinöl, nach Wiederherstellung des Gleichgewichts war die Tropfenzahl 253. Dementsprechend stieg der Wert der Grenzflächenspannung von 5,78 dyn/cm auf 9,303 dyn/cm. Bei dem nächsten Versuch wurde dasselbe Paraffinöl benutzt, das Tropfen geschah mit doppelt verdünnter wässeriger Lösung. Da nun das Paraffinöl mehr Phenol enthielt, das Wasser aber weniger als die dem Verteilungskoeffizienten entsprechende Menge, stieg die Tropfenzahl des ersten Tropfens von 123,3 nach Durchschütteln und Wiederherstellung des Gleichgewichts auf 133. Dementsprechend fiel die Grenzflächenspannung von 21,02 dyn/cm auf 16,80 dyn/cm. Dieselbe Erscheinung trat bei weiteren Verdünnungen in kleinerem Maße auf.

Bei Tropfen von destilliertem Wasser in konzentrierte paraffinölige Phenollösung stieg die Tropfenzahl nach Durchschüttelung von 96,8 auf 119,6, die Grenzflächenspannung hingegen fiel von dem höheren Anfangswerte 23,33 dyn/cm auf 19,02 dyn/cm herab.

Danach wurde die Grenzflächenspannung an dem System konzentrierte wässerige Phenollösung + konzentrierte paraffinölige Phenollösung gemessen. Weiterhin wurden beide Phasen des Systems immer doppelt verdünnt, und so ergab sich, daß die Tropfenzahl und somit der Wert der Spannung in jedem Falle — vor und nach der Durchschüttelung — derselbe war.

Die Resultate der Messungen faßt folgende Tabelle zusammen.

Tabelle V. Phenol (siehe Abb. 5).

Konzentration	Konzentration	+ Paraffinöl			+ konzentrierte paraffinölige Phenollösung	
	Proz.	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.	Tropfenzahl	σ dyn/cm
0	0	45.4	36,22			
Konz./32	0,223				65,5	34,15
	0,25		30,5*)	15		
Konz./16	0,445				70,7	30,85
Konz./8	0,89	87,2	25,00	31	80,3	27,81
Konz./4	1,78	98	22,29	38,8	103	24,31
Konz./2	3,56	133	16,80	53,6	156,6	15,33
Konz./1	7,12	253	9,30	74	389	5,65

*) ist aus der (σ, c) Kurve interpoliert.

Da die Grenzflächenspannung für das System destilliertes Wasser — Paraffinöl den Wert 36,22 dyn/cm zeigt, ist die vermindernde Wirkung der konzentrierten Phenollösung nach Durchschütteln mit Paraffinöl 74 Proz.

[1]) Tabellen *Landolt-Börnstein*, 4. Aufl., S. 592, 1912; 100 Gewichtsteile konzentrierter wässeriger Phenollösung enthält bei 0° C 7,12 Gewichtsteile Phenol (*Alexejew*), bei 20° C nach *Rothmund* 8,4 Gewichtsteile.

6. *Atropinsulfat.* Die Oberflächenspannung der wässerigen Lösung dieses Narkoticums wächst durch Stehenlassen, d. h. die Aktivität der Lösung vermindert sich, weshalb in diesem Falle auch möglichst mit frischen Lösungen gearbeitet wurde.

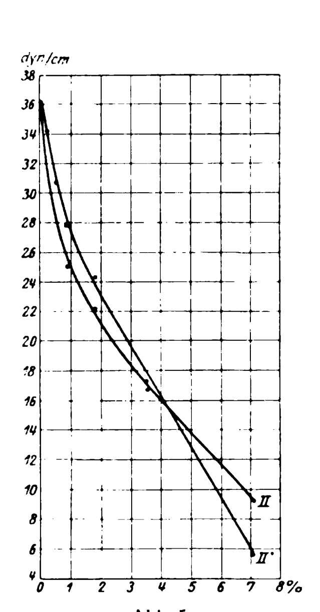


Abb. 5.
Die Kurve II' zeigt die Änderung der Grenzflächenspannung im Falle von Phenol + Phenol enthaltendes Paraffinöl.

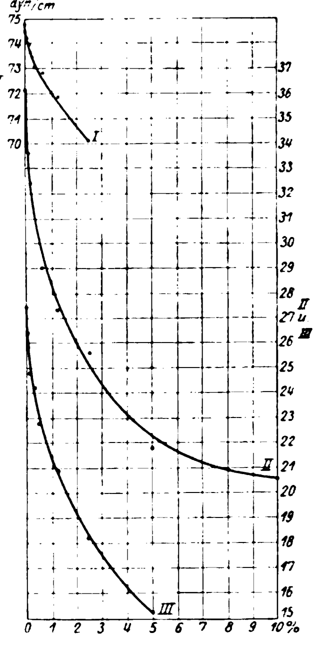


Abb. 6.

Tabelle VI. Atropinsulfat (siehe Abb. 6).

Konzentration	+ Luft			+ Paraffinöl			+ Nitrobenzol		
Proz.	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.
0	58	74,84		45,4	36,22		77	27,46	
0,02	58,25	74,49	0,4						
0,04	58,5	74,22	0,8				80,5	26,41	3,7
0,08	58,75	73,95	1,1	50,5	33,64	7,1	82,12	25,91	5,6
0,16	59	73,65	1,5	52	32,41	10,5	85,9	24,80	9,6
0,25		73,45*)	1,8		31,45*)	13,1		24,4*)	11,1
0,31	59,5	73,09	2,3	54	31,35	13,4	87,75	24,26	11,5
0,62	59,8	72,82	2,6	58,8	29,06	19,8	93,1	22,81	16,8
1,25	60,62	71,93	3,8	63,5	27,32	24,5	101,33	20,96	23,6
2,5	62,5	70,14	6,2	69,5	25,62	29,2	115,6	18,24	33,5
5,0				85,5	21,87	39,3	135,5	15,25	44
10,0				99	20,60	43			

*) ist aus der (σ, c) Kurve interpoliert.

2,5 Proz. Atropinsulfat vermindert die σ von

Wasser—Luft	um	6,2 Proz.
Wasser—Paraffinöl	„	29,2 „
Wasser—Nitrobenzol	„	33,5 „

7. *Hyoscyamin purum* ist ein in Wasser schwer lösliches Alkaloid. Die Lösung von 0,8 Proz. klärte sich erst nach viertägigem Stehen ganz. Diese Lösung wurde vor dem Tropfen in Paraffinöl mit diesem durchschüttelt, und erst nach Klärung der Flüssigkeiten und Wiederherstellung des Gleichgewichts wurde die Messung begonnen.

Tabelle VII. Hyoscyamin purum (siehe Abb. 7).

Konzentration	+ Luft			+ Paraffinöl			+ Nitrobenzol		
	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung
Proz.			Proz.			Proz.			Proz.
0	59	73,63		18	30,68		77	27,46	
0,1	59,25	73,35	0,4	24,25	23,31	23	85,5	24,86	9,4
0,2	60	72,49	1,5	28,75	19,88	35	91,1	24,59	10,4
0,25		71,0*)	3,5		18,85*)	38,5		22,85*)	16,7
0,4	64,5	67,69	8	37,25	15,63	49	100	21,45	21,8
0,8	68,75	63,82	13	45,5	13,08	57	114,5	18,75	31,7

*) Ist aus der (σ, c) Kurve interpoliert.

0,8 Proz. Hyoscyamin purum vermindert die σ von

Wasser—Luft	um	13 Proz.
Wasser—Paraffinöl	„	57 „
Wasser—Nitrobenzol	„	31,7 „

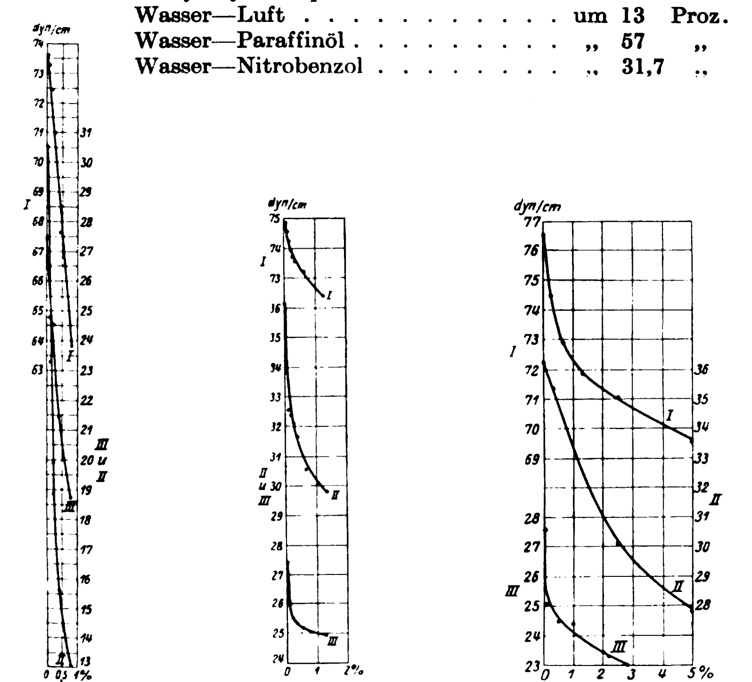


Abb. 7. Abb. 8. Abb. 9.

II. Reizende, krampferregende Gifte.

1. *Coffein.* a) *Coffeinum purum* löst sich in Wasser schwer. Seine konzentrierte wässerige Lösung ist 1,35proz.[1]).

Tabelle VIII. Coffeinum purum (siehe Abb. 8).

Konzentration	+ Luft			+ Paraffinöl			+ Nitrobenzol		
Proz.	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.
0	58	74,84		45,4	36,22		77	27,46	
0,02							81	26,11	4,8
0,04	58,25	74,54	0,4						
0,08	58,5	74,24	0,8				82,5	26,01	5,2
0,085				67,8	32,57	10			
0,16	58,75	73,95	1,2				83,5	25,52	7
0,17				68,4	32,38	10,6			
0,25		73,7*)	1,5		32,1*)	11,3		25,45*)	7,3
0,31	59,1	73,57	1,6				83,75	25,38	7,5
0,34				70,3	31,68	12,5			
0,62	59,5	73,2	2,2				84,5	25,19	8,2
0,68				73,1	30,51	15,7			
1,0		72,7*)	2,8		30,10*)	16,9		*)25,03	8,8
1,25	60,25	72,39	3,2				85	25,00	9
1,35				75,8	29,84	17,6			

*) ist aus der (σ, c) Kurve interpoliert.

1 Proz. Coffeinum purum vermindert die σ von
Wasser—Luft . . . . um 2,8 Proz.
Wasser—Paraffinöl . . . . „ 16,9 „
Wasser—Nitrobenzol . . . . „ 8,8 „

b) *Coffeinum citricum* ist die Mischung von 1 Teil Coffein und 1 Teil Acidum citricum; löst sich in Wasser gut.

Tabelle IX. Coffeinum citricum (siehe Abb. 9).

Konzentration	+ Luft			+ Paraffinöl			+ Nitrobenzol		
Proz.	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.	Tropfenzahl	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.
0	33	76,55		45,4	36,22		76,5	27,64	
0,12							84	25,07	9,3
0,25		74,5*)	2,6		35,4*)	2,2	84,5	24,87	10,0
0,3				47,7	35,36	2,3			
0,5							85,5	24,51	11,3
0,6	33,5	72,80	4,8	50	33,90	6,4			
1,0		72,12*)	5,7		33,18*)	8,3	86,5	24,45	11,5
1,25	34	71,81	6,1	53,4	32,33	10,7			
2,0							88	23,48	15
2,2							88,2	23,33	15,5
2,5	34,5	71,07	7,1	59,2	30,18	16,6			
2,8							89	23,03	16,6
5,0	35,5	69,53	9	69	27,86	23			

*) ist aus der (σ, c) Kurve interpoliert.

[1]) *Beilstein*, Handb. d. org. Chem. 1893.

1 Proz. Coffeinum citricum vermindert die σ von

Wasser—Luft . . . . um 5,7 Proz.
Wasser—Paraffinöl . . . . „ 8,3 „
Wasser—Nitrobenzol . . . . „ 11,5 „

c) *Benzoesaures Natriumcoffein* löst sich in Wasser gut, ändert seine Aktivität nicht; die Tropfenzahl bleibt nach Stehenlassen und Durchschütteln mit Paraffinöl dieselbe. Da für Wasser—Paraffinöl die Grenzflächenspannung $\sigma = 36{,}22$ dyn/cm ist, ist die vermindernde Wirkung des benzoesauren Na-Coffeins für dieses System folgende:

Konzentration:

0,25, 0,3, 0,6, 1,0, 1,25, 2,5, 5,0, 10,0 Proz.
σ = 33,95, 33,06, 32,85, 31,25, 30,97, 29,06, 28,94, 28,73 dyn/cm,

vermindernde Wirkung:

6,2, 8,7, 9,3, 13,7, 14,4, 19,7, 20,1, 20,6 Proz. (s. Abb. 10)

Also vermindert die σ desselben Systems Wasser—Paraffinöl

1 Proz. Coffeinum citricum . . . . um 8,3 Proz.
1 „ benzoesaures Natriumcoffein . . . . . „ 13,7 „
1 „ Coffeinum purum . . . . „ 16,9 „

woraus ersichtlich ist, daß Coffeinbase die größte vermindernde Wirkung hat. (Siehe die zitierte Abhandlung von *Traube* und *Onodera*).

2. *Pikrotoxin* löst sich in Wasser schwer. Es enthält kein Nitrogen, ist also kein Alkaloid. Nach *Beilstein*[1]) löst sich 1 Teil Pikrotoxin bei 15° C in 400 Teilen Wasser, bei 20° C in 350 Teilen Wasser. Die Tropfenzahl der wässerigen Lösungen verändert sich nach Stehenlassen und Durchschütteln mit Paraffinöl nicht. Am größten ist seine Aktivität für das System Wasser—Paraffinöl.

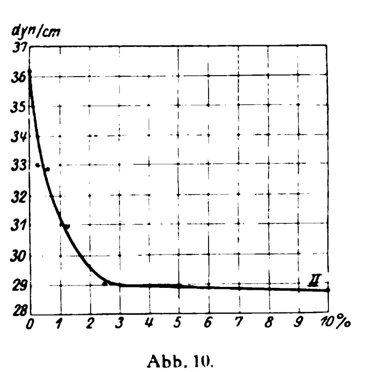


Abb. 10.

Tabelle X.

Pikrotoxin (siehe Abb. 11).

Konzentration Proz.	+ Luft Tropfenzahl	+ Luft σ dyn/cm	+ Luft vermindernde Wirkung Proz.	+ Paraffinöl Tropfenzahl	+ Paraffinöl σ dyn/cm	+ Paraffinöl vermindernde Wirkung Proz.	+ Nitrobenzol Tropfenzahl	+ Nitrobenzol σ dyn/cm	+ Nitrobenzol vermindernde Wirkung Proz.
0	58,5	74,23		16	34,51		77	26,79	
0,05				16,5	33,58	2,6	77,9	26,48	1
0,1	58,75	73,94	0,4	16,75	33,15	3,9	78,5	26,28	2
0,125	58,9	73,76	0,6	17,1	32,55	5,4	79,2	26,07	2,6
0,15				17,2	32,39	6,1			
0,2				17,33	32,21	6,6			
0,25	59,5	73,06	1,5		32,0*)	7,2	80,3	25,7	4

*) Ist aus der (σ, c) Kurve extrapoliert.

[1]) Org. Chem. 3, 642.

0,25 Proz. Pikrotoxin vermindert die σ von

Wasser—Luft	um	1,5 Proz.
Wasser—Paraffinöl	„	7,2 „
Wasser—Nitrobenzol	„	4,0 „

3. *Strychninum nitricum* löst sich in Wasser ziemlich gut. Vermindert die Oberflächenspannung des Wassers nur in sehr geringem Maße, die Grenzflächenspannung zwischen Wasser—Paraffinöl bzw. Wasser—Nitrobenzol hingegen in hohem Maße. Während des Tropfens zeigte die Tropfenzahl nach dem dynamischen Anfangswert bald einen konstanten, statischen Wert. In meinen Berechnungen nahm ich letzteren in Betracht.

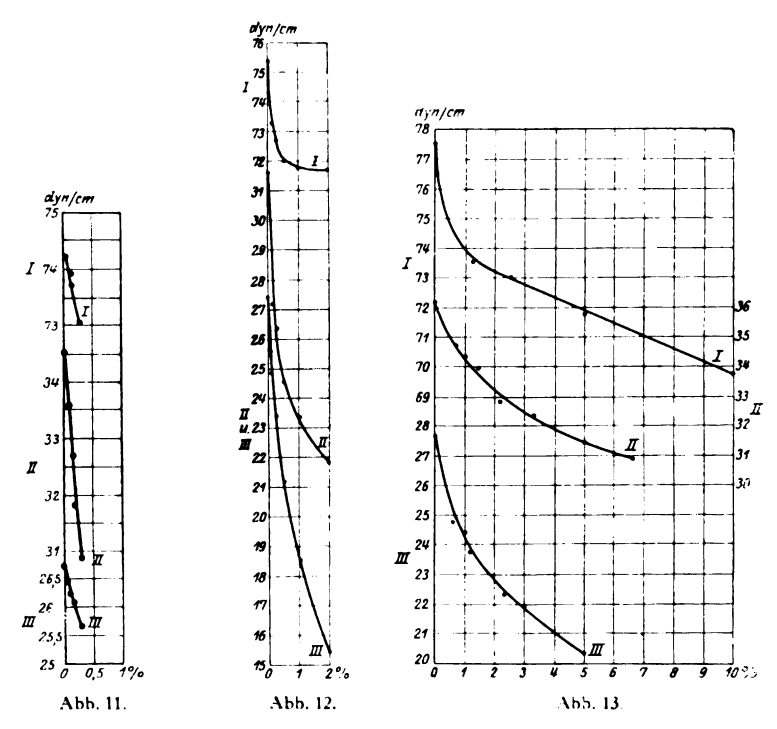


Abb. 11. Abb. 12. Abb. 13.

Tabelle XI. Strychninum nitricum (siehe Abb. 12).

Konzentration Proz.	+ Luft Tropfenzahl	+ Luft σ dyn/cm	+ Luft vermindernde Wirkung Proz.	+ Paraffinöl Tropfenzahl	+ Paraffinöl σ dyn/cm	+ Paraffinöl vermindernde Wirkung Proz.	+ Nitrobenzol Tropfenzahl	+ Nitrobenzol σ dyn/cm	+ Nitrobenzol vermindernde Wirkung Proz.
0	59	75,41		18	31,61		77	27,46	
0,06							84	25,55	6,9
0,125	59,3	73,29	2,8	21,2	27,19	14	86,4	24,84	9,5
0,25	59,8	72,75	3,5	22	26,41	16,4	92	23,4	14,7
0,5	60,5	72,01	4,5	23,8	24,57	22,2	102	21,16	23,0
1,0	60,75	71,81	4,7	25,47	23,36	26,0	116,5	18,51	32,5
2,0	61,0	71,76	4,8	28	21,83	31	138	15,5	44,1

2 Proz. **Strychninum nitricum vermindert die** σ von

Wasser—Luft	um	**4,8** Proz.
Wasser—Paraffinöl	„	**31,0** „
Wasser—Nitrobenzol	„	**44,1** „

Bei stark verdünnten Lösungen jedoch **vermindert sich der Wert der Grenzflächenspannung für Wasser**—Paraffinöl **in höherem Maße als für Wasser**—Nitrobenzol.

4. ***Pilocarpinum hydrochloricum*** ist in Wasser leicht löslich; zeigt eine geringe Aktivität.

Tabelle XII.

Pilocarpinum hydrochloricum (siehe Abb. 13).

Konzentration Proz.	+ Luft Tropfenzahl	+ Luft σ dyn/cm	+ Luft vermindernde Wirkung Proz.	+ Paraffinöl Tropfenzahl	+ Paraffinöl σ dyn/cm	+ Paraffinöl vermindernde Wirkung Proz.	+ Nitrobenzol Tropfenzahl	+ Nitrobenzol σ dyn/cm	+ Nitrobenzol vermindernde Wirkung Proz.
0	33	76,55		45,4	36,22		76,5	27,64	
0,25		75,5*)	1,3		35,6*)	1,7		26,55*)	3,9
0,6							83,5	24,77	10,3
0,65				48,7	34,79	3,9			
1,0		73,9*)	3,4	49,4	34,37	5,1		24,2*)	12,4
1,2							86,8	23,79	13,9
1,25	33,2	73,55	3,9						
1,46				50,5	34,00	6,1			
2,4							91,5	22,37	19
2,5	33,5	73,03	4,5						
3,0							93	21,91	20.7
3,3				54,4	32,34	10,6			
5,0	34.2	71,83	6,1	57,9	31,44	13,2	98,5	20,37	26
6,6				60,6	30.91	14.6			
10,0	36,5	69,77	8,8						

*) ist aus der (σ, c) Kurve interpoliert.

5 Proz. Pilocarpinum hydrochloricum vermindert die σ von

Wasser—Luft	um	6,1 Proz.
Wasser—Paraffinöl	„	13,2 „
Wasser—Nitrobenzol	„	26.0 „

Es wäre nun interesssant, die in Prozenten ausgedrückte, die Oberflächenspannung bzw. Grenzflächenspannung vermindernde Wirkung der untersuchten Narkotica in ihrer z. B. auf Kaulquappen bezogenen narkotischen Grenzkonzentration zu vergleichen. Diesen Vergleich konnte ich nicht durchführen, da ich in der Literatur keine Daten über die narkotische Grenzkonzentration der von mir untersuchten Narkotica fand. Nicht ohne Interesse ist aber der Zusammenhang, welcher durch Benutzung der Daten von den Herren *Horváth* und *Binder* zwischen der Wirkungsstärke und der prozentigen, oberflächenspannungsvermindernden Wirkung einiger Narkotica ausweisbar ist.

Tabelle XIII.
(siehe Abb. 14).

Narkoticum	Narkotische Grenzkonzentration bezogen auf Kaulquappen		An der Grenzfläche phys. NaCl + Nitrobenzol	Vermindernde Wirkung
	Mol/Liter *)	Proz.	σ dyn/cm	Proz.
Trional	0,0018	0,044	26,99	0,04
Sulfonal . . .	0,006	0,14	26,99	0,04
Chloralhydrat	0,02	0,33	26,35	2,4
Urethan . . .	0,04	0,36	25,8	4,4

*) *Winterstein*, Die Narkose 1919, S. 208.

Aus dieser Tabelle folgt, daß die Wirkungsstärke sich der Oberflächenaktivität *antibat* verhält, d. h. je kleiner die Oberflächenaktivität des Narkoticums, desto stärker die pharmakologische Wirkung desselben ist.

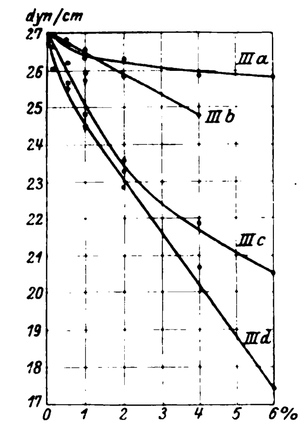


Abb. 14 stellt die Änderungen der Grenzflächenspannung bei den Systemen in physiologischer NaCl-Lösung gelösten a) Trional-, b) Sulfonal-, c) Chloralhydrat-, d) Urethan + Nitrobenzol dar.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen kann ich im folgenden zusammenfassen:

1. Die untersuchten lähmenden Stoffe sind sämtlich *aktiv* in bezug auf die Oberflächenspannung. *Die Oberflächenspannung* gegen Luft der wässerigen Lösungen *wird ohne Inversion immer kleiner bei Vergrößerung der Konzentration*, d. h. die verringernde Wirkung steigt mit der Konzentration (s. die graphische Darstellung).

2. Die an der Grenze von Paraffinöl bzw. Nitrobenzol gemessene Grenzflächenspannung wird ebenfalls *andauernd vermindert* bei Steigerung der Konzentration.

3. Die Oberflächenspannung der wässerigen Lösungen der erregenden Stoffe gegen Luft und ebenso auch die an der Grenze von Paraffinöl und Nitrobenzol auftretenden Grenzflächenspannungen werden mit Steigerung der Konzentration ständig kleiner, *wie bei den lähmenden Stoffen.*

Die Oberflächenspannung und Grenzflächenspannung der 0,25proz. wässerigen Lösungen der untersuchten lähmenden und reizenden Stoffe sowie die in Prozenten ausgedrückte vermindernde Wirkung der auf destilliertes Wasser bezogenen ursprünglichen Werte sind in Tabelle XIV zusammengefaßt.

Um den Vergleich bei ein und derselben Konzentration machen zu können, sind diese Werte meist mit Hilfe der Kurve (σ, c) interpoliert.

Unter den untersuchten *lähmenden* Stoffen ist *Hyoscyamin purum* derjenige, welcher bei 0,25proz. Konzentration die an der Grenzfläche

Wasser—Luft bzw. Wasser—Paraffinöl und Wasser—Nitrobenzol auftretende Grenzflächenspannung σ in höchstem Maße vermindert, und zwar um 3,5 bzw. 38,5 und 16,7 Proz. Am wenigsten verringert die Spannung bei derselben Konzentration *Morphinum hydrochloricum*, und zwar um 1,3 bzw. 2 und 3,1 Proz.

Tabelle XIV.

Lähmende Stoffe

25 proz. Lösung von	Luft		Paraffinöl		Nitrobenzol	
	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.	σ dyn/cm	vermindernde Wirkung Proz.
Morphinum hydrochloricum . . .	75,5	1,3	30,06	2	37,2	3,1
Cocainum hydrochloricum . . .	74,5	2,6	34,3	11,3	23,0	14,1
Chloralhydrat . .	73,08	1,7	34,20	3,2	25,63	4,8
Phenol			30,5	15		
Atropinsulfat . .	73,45	1,8	31,45	13,1	24,4	11,1
Hyoscyamin pur.	71,0	3,5	18,85	38,5	22,85	16,7
Erregende Stoffe						
Coffeinum purum	73,7	1,5	32,1	11,3	25,45	7,3
Coffeinum citricum	74,5	2,6	35,4	2,2	24,87	10
Benzoesaures Natriumcoffein . .			33,95	6,2		
Pikrotoxin	73,06	1,5	32,0	7,2	25,7	4
Strychninum nitricum	72,75	3,5	26,41	16,4	23,4	14,7
Pilocarpinum hydrochloricum .	75,5	1,3	35,6	1,7	26,55	3,9

Unter den untersuchten *reizenden Giften* vermindert *Strychninum nitricum* bei 0,25proz. Konzentration die Grenzflächenspannung des Wassers gegen Luft bzw. Paraffinöl und Nitrobenzol in höchstem Maße, und zwar um 3,5 bzw. 16,4 und 14,7 Proz. Bei derselben Konzentration ist die Aktivität des *Pilocarpinum hydrochloricum* die kleinste: 1,3 bzw. 1,7 und 3,9 Proz.

Unter *allen* untersuchten Stoffen — bei ein und derselben Konzentration — hat die isomere Verbindung des Atropins, das *Hyoscyamin purum*, die größte verringernde Wirkung, wogegen das physiologisch entgegengesetzt wirkende *Pilocarpinum hydrochloricum* bzw. in fast gleichem Maße auch *Morphinum hydrochloricum* die geringste Wirkung besitzen.

Aus meinen Untersuchungen ergibt sich, daß sowohl die erregenden als auch die lähmenden Stoffe die Oberflächenspannung verringern. Diese Wirkung wächst mit der Konzentration, und zwar ohne Wendepunkt, sowohl gegen Luft als auch gegen mit Wasser nicht mischbaren

Flüssigkeiten. Bei letzteren ist die verringernde Wirkung viel stärker als an der Grenzfläche zwischen Lösung und Luft.

Die verschiedene pharmakologische Wirkung der lähmenden und erregenden Stoffe können also nicht ihrer auf die Oberflächenspannung ausgeübten Wirkung zugeschrieben werden. Die die Oberflächenspannung verringernde Wirkung kann höchstens mit der Eindringungsfähigkeit in die Zelle im Zusammenhang stehen, die eigentliche pharmakologische Wirkung muß dagegen spezifischen (chemischen) Reaktionen entstammen.

Zum Schluß sei mir gestattet, meinem verehrten gewesenen Chef, Herrn *L. v. Rhorer*, Prof. des phys. Inst. an der k. ungar. Elisabeth-Universität in Pécs, für die Aufmunterung und die vielen freundlichen Ratschläge, durch welche er mir bei meiner Arbeit stets behilflich war, an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

1) *Traube*, diese Zeitschr. **42**, 1912. — 2) *Traube* und *Onodera*, Intern. Zeitschr. f. phys.-chem. Biol. **1**, 1914. — 3) *H. Tschernorutzky*, diese Zeitschr. **46**, 1912. — 4) *Berczeller* und *Csáki*, ebendaselbst **58**, 1913. — 5) *Berczeller* und *Seiner*, ebendaselbst **84**, 1917. — 6) *Joel*, Pflügers Arch. **161**, 1915. — 7) *Kohlrausch*, Ann. d. Phys. **20**, 1906. — 8) *Lohnstein*, ebendaselbst **20**, 1906.

Das Vorkommen seltener Elemente in den Nahrungsmitteln und menschlichen Ausscheidungen.

Von

Ragnar Berg.

(Aus dem physiologisch-chemischen Laboratorium Weißer Hirsch.)

(Eingegangen am 23. September 1925.)

Durch die deutschen Zeitschriften geht jetzt eine Notiz, wonach der französische Forscher *Bertrand* auf einer größeren Anzahl Kulturböden Nickel und gewöhnlich auch Kobalt in absehbaren Mengen gefunden hat. Dies veranlaßt mich, schon jetzt in einer vorläufigen Notiz etwas mitzuteilen, was ich eigentlich für die vierte Auflage meiner „Nahrungs- und Genußmittel" hatte aufsparen wollen.

Bei meinen Untersuchungen über die Zusammensetzung der Nahrungsmittel wie auch bei meinen Stoffwechselversuchen habe ich gefunden, daß nur die genaueste wissenschaftliche analytische Methodik zulässig ist. Infolgedessen habe ich schon 1923 gefunden, daß die Bestimmung von Mangan in Nahrungsmitteln, Harn und Kot von Menschen stets anormal verlief. Wenn man den durch Schwefelammonium erhaltenen Niederschlag, den ich anfangs als reines Mangansulfid betrachtete, in Permanganat verwandelte, zeigte es sich, daß der Mangangehalt viel geringer war, als sich aus dem Sulfid berechnen ließ.

Die Ursache hierzu war schnell gefunden. Schon die schwarzbraune Farbe des Manganniederschlages mit Schwefelammonium deutete auf die Anwesenheit von Sulfiden von Kobalt und Nickel. Nickel wurde dann mit Dimethylglyoxim nachgewiesen und bestimmt, und im Filtrat davon wurde dann auch Kobalt nachgewiesen und bestimmt.

Die Nickelmenge kann unter Umständen ganz beträchtlich sein: bis 2 mg und mehr in 100 g Substanz, während die Kobaltmenge bedeutend geringer ist und sich häufig nur noch eben nachweisen läßt.

Zählen wir aber die so berechneten Mengen von Mangansulfid, Nickelsulfid und Kobaltsulfid zusammen, so ergibt sich gegenüber dem Schwefelammoniumniederschlag immer noch ein gewaltiges Defizit. Dies könnte nur noch von einem Metall herrühren, und tatsächlich konnte auch mit Leichtigkeit Zink nachgewiesen werden.

Die Zinkmenge ist in unseren Nahrungsmitteln überraschend groß, gewöhnlich sogar größer als die Manganmenge. Ich habe so in einzelnen Nahrungsmitteln (wie Spinat, grüne Bohnen) über 20 mg Zinkoxyd in 100 g Substanz bestimmen können.

Zweimal, das eine Mal bei Spinat, das andere Mal in einer Roggenprobe, ergab das Zusammenzählen der Sulfide von Mangan, Zink, Nickel und Kobalt immer noch eine geringe Differenz gegenüber dem rohen Mangansulfidniederschlag. Anfangs dachte ich an Eisen als Ursache, das ja in Staubform die ganze Luft erfüllt und bei diesen Präzisionsanalysen uns immer wieder Streiche spielen kann. Die peinlichste Sorgfalt, die schließlich jede Anwesenheit von Eisen ausschloß, ergab immer noch die Anwesenheit eines fremden Stoffes, und als ich schließlich zur Spektralanalyse griff, entpuppte sich dieser als Spuren von — Thallium! Die Spuren waren eben bestimmbar: etwa 0,1 mg in 100 g Substanz.

Bei meinen ersten Versuchen, Mangan zu bestimmen, fand ich sofort auch die stete Anwesenheit eines weiteren Schwermetalles: Kupfer. Seitdem habe ich die ganze Aschenlösung sofort mit Schwefelwasserstoff behandelt, um das Kupfer zu bestimmen. Dabei ergab sich jedoch auch die Anwesenheit eines neuen Metalles: Blei. Während Kupfer häufig in größeren Mengen vorkommt, d. h. bis zu 1 mg in 100 g Substanz, kommt Blei gewöhnlich nur in eben nachweisbaren Mengen vor. Eine Ausnahme scheinen in dieser Hinsicht die Getreidearten zu machen, da ich bei Roggen, Weizen und Hafer weit größere Bleimengen fand: bis zu 1,1 mg Bleioxyd in 100 g Substanz.

Die Prüfung der stets quantitativ abgeschiedenen Kieselsäure ergab die Anwesenheit eines neuen Elements: Titan. Die Mengen sind gewöhnlich sehr gering und erreichen selten 1 mg in 100 g Substanz. Titaneisen ist ja ebenso wie Kobalt und Nickel ungeheuer verbreitet, wenn auch gewöhnlich nur in Spuren, weshalb das Vorkommen dieses Elements auch in den Nahrungsmitteln nicht so wunderbar ist.

Über die Bedeutung dieser in Spuren vorkommenden Stoffe für das Leben können wir ja vorläufig gar nichts sagen. Nach meinen Untersuchungen von menschlichen Ausleerungen scheinen ja die Schwermetalle stets auch in menschlichen Körpern vorzukommen und im Harn nachweisbar zu sein, ebenso wie lösliche Kieselsäure und Titansäure stets im Harn nachweisbar ist. Es ist aber immer noch ziemlich zweifelhaft, ob diese Stoffe tatsächlich für unser Leben von Bedeutung sind, oder ob ihr Vorkommen nur als passager zu betrachten ist. Angefangene neue Untersuchungen über die Zusammensetzung der menschlichen Organe werden vielleicht hier Klarheit verschaffen können.

Die Verwendung der Säurehydrolyse zur Ligninbestimmung.

Von

Lauri Paloheimo.

(Aus dem Institut für Haustierlehre der Universität Helsingfors.)

(Eingegangen am 23. September 1925.)

Im Laboratorium des Instituts für Haustierlehre der Landwirtschaftlichen Fakultät der Universität Helsingfors sind schon mehrere Jahre Untersuchungen über die Bestandteile der Pflanzenzellwände im Gange gewesen, und ganz besonders hat sich das Interesse dem sogenannten Lignin oder den inkrustierenden Substanzen zugewendet. In dem Folgenden sollen die wichtigsten Ergebnisse besprochen werden. Eine vollständige Beschreibung und Behandlung der Aufgabe wird später erscheinen.

Bei den Versuchen wurde zur Hydrolyse erst eine 41proz. Salzsäure benutzt. Später zeigte es sich, daß die hydrolytischen Prozesse mit 70proz. Schwefelsäure ebenso schnell und ergiebig erfolgten, warum diese Säure in der Hauptsache bei den jetzt zu schildernden Versuchen benutzt wurde. Sowohl mit Salzsäure als auch mit Schwefelsäure konnte man recht übereinstimmende Resultate erhalten. So ergab sich die sogenannte Ligninmenge (Hydrolysenrest) des Fichtenholzes zu 30 Proz., von Heu und Stroh etwa 20 Proz. usw.; Zahlen, die auch von anderen Autoren angegeben sind.

Genauere Untersuchungen zeigten aber, daß diese Zahlen zu hoch waren, und führten weiter zur Aufdeckung der Fehlerquellen. Es waren solcher eine ganze Reihe:

1. Bei kürzerer Hydrolysezeit entstand bei Verdünnung mit Wasser eine Kohlenhydratfällung, welche bei Filtrieren sich dem Lignin beimischt und somit das Ergebnis zu groß erscheinen ließ.

2. Nach einer zu lange dauernden Hydrolyse koagulierten bei Verdünnung mit Wasser humusartige Substanzen — wir können sie Reversions- oder sekundäre Kondensationsprodukte von Kohlenhydraten nennen—, welche wiederum eine zu hohe Zahl ergaben.

Diese Resultate veranlaßten zum Filtrieren ohne Verdünnung.

3. Durch Verwendung stufenweise wachsender Hydrolysezeiten zeigte es sich, daß in den meisten Fällen schon in kürzerer Zeit als

einer Stunde ein Rest erhalten wurde, welcher nur eine kurze Zeit sich konstant verhielt und dann langsam zu wachsen begann. Der Gang der Kurve hängt offenbar mit einer nach dem erreichten Minimum recht rasch folgenden Adsorption von sekundären Kondensationsprodukten an der Oberfläche der Ligninkorpuskeln zusammen. Für diese Annahme spricht weiter noch die Tatsache, daß das Ansteigen dieser Kurve beträchtlich verzögert werden konnte durch Benutzung steigender Säuremengen, d. h. durch kleinere Konzentration der Kohlenhydrate.

Auf Grund dieser Resultate wurden recht beträchtliche Säuremengen benutzt — 200 ccm pro Gramm Substanz — und die Hydrolyse in zwei Stufen bewirkt, so daß nach einer halben Stunde eine Abfiltrierung dazwischen geschoben wurde, wonach die Hydrolyse noch einige Stunden weitergeführt wurde.

4. Das Fichtenholzprotein in der Hauptsache, wie auch ein Teil der Proteinstoffe des Heues und Strohes, ist sehr schwer hydrolysierbar, eine gewisse Menge bleibt ungelöst auch nach tagelanger Hydrolyse. Wird dieses nicht beachtet, resultiert auch ein zu hoher Ligninbetrag.

Es ist daher unbedingt notwendig, nach Bestimmung des Hydrolysenrestes noch eine Stickstoffbestimmung zu machen und die berechnete Proteinmenge von der Ligninmenge abzuziehen, um ein annähernd richtiges Resultat zu erhalten.

Mit der älteren Methode ergab eine Probe Fichtenholz z. B. 30 Proz. Hydrolysenrest, mit sämtlichen Korrekturen 25 Proz.; Kleeheu früher 25 Proz., nach der Korrektur 7 Proz.; Roggenstroh früher 20 Proz., jetzt 3 Proz.

In diesem Zusammenhang seien noch einige wichtige Daten erwähnt.

Der in der geschilderten Weise erhaltene Ligninbetrag wird nicht beeinflußt, wenn auch der Hydrolysenrest mit verdünnter Säure oder Lauge gekocht wird. Auch wirkt eine solche Säure- bzw. Laugebehandlung nicht auf das Endresultat ein, wenn sie der Säurehydrolyse vorausgeht. Durch Kochen in verdünnter Lauge kann eine solche Veränderung oder Auslösung der zur Reversion neigenden Substanzen erzielt werden, daß die störende Adsorption nicht zustande kommt. Durch eine vorbereitende Behandlung des Materials mit verdünnter Lauge können somit konstante und richtige Ligninbeträge ohne zweimalige Säurehydrolyse erhalten werden.

Es hat sich durch Tierversuche gezeigt, daß das so gewonnene Lignin des Heues in keiner Weise durch Bakterientätigkeit im Verdauungskanal des Wiederkäuers beeinflußt wird. Das Lignin der Futterstoffe geht somit einfach als toter Ballast durch.

Wasserstoffionenkonzentration und „Elektropie“.

Von

Michael Bálint (Budapest).

(Eingegangen am 24. September 1925.)

Karczag hat beobachtet (1), daß manche Triphenylmethanfarbstoffe durch eine Reihe von Körpern entfärbt werden konnten. Diese Körper waren meistens indifferente Substanzen, wie Kohle, Schwefelblume, Kaolin, Albumin usw., hatten aber alle gemeinsam, daß sie in Wasser schwer- oder unlöslich waren, so daß in den Versuchen immer ein Bodenkörper vorhanden war, und daß sie, in Wasser suspendiert, alle negativ geladen, also durch den elektrischen Strom zur Anode bewegt wurden. Die Entfärbung der Farbstoffe beruhte nicht auf Adsorption, da die filtrierten farblosen Lösungen auf Zusatz von Säuren ihre ursprünglichen Farben bekamen. *Karczag* vermutete, daß diese Entfärbung eben durch die elektrostatische Wirkung der ladungtragenden Stoffe hervorgerufen werde, und sah darin einen Vorgang von prinzipieller Bedeutung. Er nannte ihn *Elektropie* und definierte im allgemeinen dieselbe „als eine Naturerscheinung, welche sich in chemischen Umwandlungen bzw. stofflichen Veränderungen von Substanzen unter dem Einfluß von elektrostatischer Energie offenbart“ (l. c., S. 345). Verbindungen, welche zu solchen Umwandlungen fähig sind, zeigen also die Anwesenheit von elektrischen Ladungen an, fungieren sozusagen als Elektroskope, sie wurden daher *elektrope Substanzen* genannt. Diejenigen Körper, welche eine elektrostatische Ladung besitzen und somit „zur Auslösung oder Unterhaltung eines elektropen Vorgangs befähigt“ (l. c., S. 345) sind, erhielten den Namen *Ladungsstoffe*. Unter den elektropen Substanzen sind diejenigen von besonderer Wichtigkeit, bei denen sich die konstitutionelle Veränderung durch Farbwechsel bzw. Ent- oder Verfärbung kundgibt; sie wurden als *Chemoskope* hervorgehoben. Solche Chemoskope sind die oben erwähnten Triphenylmethanfarbstoffe. Dieselben haben gemeinsam, daß die Benzolringe bei ihnen nur durch den Methankohlenstoff verbunden sind.

Die Entfärbung dieser Farbstoffe unter Einwirkung von Alkalien hat schon *Hantzsch* studiert. Er nimmt an, daß Zusatz von Lauge aus dem Farbstoff zuerst die entsprechende Farbbase, eine echte

Ammoniumbase frei macht, die noch gefärbt ist. Sie ist aber in alkalischer Lösung nicht beständig und geht allmählich unter gleichzeitigem Schwund der chinoiden Bindung und Verlust der Farbe infolge Wanderung der OH-Gruppe zum Methankohlenstoffatom in das isomere Carbinol über. *Karczag* ging einen Schritt weiter. Wie seine oben erwähnten Versuche zeigen, verursachten nicht nur die stark negativ geladenen OH-Ionen, sondern auch alle negativ geladenen Teilchen eine Wanderung der OH-Gruppe im Farbstoffmolekül; folglich kann man diese Gruppe als den Zeiger eines Elektroskops ansehen, der durch seine Stellung — farbig oder farblos — Sinn und Stärke der anwesenden elektrischen Ladungen angibt.

I. Die Umschlagsgebiete.

Zweck der vorliegenden Arbeit war, die Farbänderungen dieser als elektrop erkannten Farbstoffe näher zu untersuchen, um dadurch zu einem besseren Verständnis der Elektropie zu gelangen. Da alle diese Farbstoffe auch Indikatoreigenschaften besitzen (2), bestand die erste Aufgabe darin, ihre Umschlagsbereiche genau festzulegen.

Es wurden nur die typischsten Vertreter ausgesucht, diejenigen nämlich, welche sich nicht nur in vitro, sondern auch in vivo bewährt haben. Folgende Zusammenstellung bringt die Resultate. Alle Zahlen bedeuten Wasserstoffexponenten. Die erste gibt die Stelle der ersten wahrnehmbaren Verblassung an, diejenige in Klammern die Stelle der praktischen Farblosigkeit bzw. Verlustes des ursprünglichen Farbtons, und die letzte entweder die vollständige Entfärbung (also farblos auch in hohen, 10 bis 15 cm dicken Schichten) oder das Ende der wahrnehmbaren Farbänderung. Zu 10 ccm der Pufferlösung wurden im alkalischen Gebiet 1,0 ccm, im sauren 0,5 ccm der 0,2prom. wässerigen Farblösungen gegeben. Die Ablesung erfolgte nach einigen Stunden, um die Versuchsbedingungen den Verhältnissen in vivo möglichst anzupassen. Hinter jedem Farbstoff steht die Abkürzung, wie er in dieser Arbeit erwähnt sein wird.

Tabelle 1.

Farbstoff	
Rotviolett (RV)	violett 4,1 — blasser und gelblicher — 8,3 rein gelb.
Wasserblau (WB) . . .	blau 4,6 — (7,2) — 8,7 farblos.
Baumwollblau (BwB) .	blau 4,8 – (7,2) — 8,8 farblos.
Säurefuchsin (FS) . . .	rot 4,8 — (8,8) — 9,3 blaßgelb.
Anilinblau w. l. (AnB) .	blau 4,8 — (9,3) wird gelblich — 10,0 rein gelb.
Lichtgrün (LG)	grün 6,8 — (9,7) wird gelblich — 10,4 rein gelb — verblaßt weiter.
Pyrrolblau (PyB) . . .	blau 8,5 — (11,3) wird gelblich — 12,4 rein gelb.
Säureviolett (SV) . . .	violett 9,9 — wird bläulich — 12,0 rein blaßblau — verblaßt weiter.
Methylblau F (MBF) .	blau 1,3 — violett — wird blasser — 10,0 bräunlich — 12,6 rein gelb — verblaßt weiter.

Anmerkung. Beim Wasserblau wurde der zweite Umschlagspunkt, welcher in der Nähe von $p_H = 11$ erfolgt, nicht aufgenommen.

II. Ladungsstoffe. Elektrope Umwandlungen.

Zum Vertreter der Ladungsstoffe wurde der Kohlenstab gewählt, welcher, wie nach früheren Versuchen bekannt (l. c., S. 384), eine starke umlagernde Wirkung besitzt und dennoch (im Gegensatz zu Kohlenpulver) nur wenig Farbstoff adsorbiert. Durch solche Stäbe, wie sie für elektrische Bogenlampen benutzt werden, konnten folgende Farbstoffe entfärbt werden: RV, WB, BwB, FS, AnB, dagegen wurden LG, SV, PyB, MBF nur unwesentlich verblaßt oder überhaupt nicht verändert. Dasselbe Verhalten der Farbstoffe konnte beobachtet werden, als die Carbinolherstellung mittels der von *Karczag* angegebenen Kochmethode (l. c., S. 348) vorgenommen wurde. Ein Blick auf die Tabelle I wird zeigen, daß alle diejenigen Farbstoffe, welche bei p_H etwa 8,5 praktisch farblos sind, entfärbt wurden. Alle anderen blieben unbeeinflußt. Dieser Umstand legte mir nahe, die Ursache der Entfärbung in einer Änderung der $[H^+]$ zu suchen, ein Gedanke, der schon durch *Wankell* (3) aus dem *Höber*schen Institut klar ausgesprochen und auch an einigen Beispielen experimentell bestätigt wurde.

Wenn der Wasserstoffexponent durch die oben erwähnten Prozeduren nur bis etwa 8,5 erhöht wird, müssen die Farbstoffe in die oben beschriebenen Gruppen zerfallen. Als ich dann die $[H^+]$ von ungepufferten Farblösungen, welche 1 bis 2 Tage über Kohlenstäben gestanden hatten, mittels der Gaskette gemessen habe, stellte es sich heraus, daß das p_H derselben ausnahmslos vom ursprünglichen Werte 5 bis 6 auf 8,5 bis 9,5 erhöht wurde. Ebenso verhielten sich die gekochten Lösungen. Daß durch Kochen das p_H von ungepufferten Lösungen erhöht wird, versteht sich leicht. Es entweicht einerseits Kohlensäure, andererseits gibt auch das beste Glas etwas Alkali ab. Es ist auch allgemein bekannt, daß Kohle von allen Ionen die H-Ionen am schnellsten adsorbiert. Ließ ich also genügend verdünnte Farblösungen längere Zeit über Kohlenstäben stehen, so wurden sie immer weniger regenerierbar, da mit der Zeit nicht nur die H-, sondern auch die Farbstoffionen adsorbiert wurden.

Soll wirklich die Änderung der $[H^+]$ die ausschlaggebende Rolle bei den Umwandlungen spielen, so muß die Entfärbung in gepufferten Lösungen unterbleiben. Tatsächlich fand ich, daß alle Farblösungen, die n/50 bis n/100 stark auf p_H 3,5 bis 4,0 gepuffert waren, ihren ursprünglichen Farbenton beibehielten, selbst wenn sie einige Tage über Kohle standen bzw. 5 bis 6 Stunden lang gekocht wurden. Blieben aber diese Lösungen sehr lange Zeit über Kohlenstäben stehen, so verblaßten sie allmählich infolge Adsorption. Es konnte aber in keinem Zeitpunkt eine Regeneration durch Säure beobachtet werden.

Von besonderer Wichtigkeit für die Theorie ist die elektrope Umwandlung der Farbstoffe durch Wasserstoffperoxyd. Da das im Handel

erhältliche H_2O_2 immer mit Säuren stabilisiert wird, konnte es nicht verwendet werden. Die Fabrik G. Richter, Budapest, hat mir eine neutrale Lösung von 15 Proz. H_2O_2 bereitwillig zur Verfügung gestellt, wofür ich ihr meinen verbindlichsten Dank aussprechen möchte.

Von dieser Lösung gab ich zu 5 ccm 0,1 prom. Lösungen von FS, WB, LG, SV, PyB 5 Tropfen und konstatierte nach einigen Minuten, daß sie mit Ausnahme von SV und PyB, und zwar entsprechend einem p_H von 7 bis 8 verblaßten. Also wiederum die gleiche Gruppierung, wie sie beim Kochen oder bei der Behandlung mit Kohle beobachtet werden konnte. Durch Säure konnten anfangs die entfärbten Lösungen mit ihrem ursprünglichen Farbenton regeneriert werden. Wenn man sie aber längere Zeit stehen ließ, wurden sie alle immer blasser, wohl infolge der langsam einsetzenden Oxydation, dementsprechend wurde auch die regenerierbare Farbe immer blasser. Nach 24 Stunden konnte nur FS in Spuren regeneriert werden.

Sollte die Meinung richtig sein, daß die primäre Farbänderung nur durch Erhöhung des p_H verursacht werden kann, so mußte ich annehmen, daß sie auch in diesem Falle eingetreten ist. Mittels der Gaskette ging der strenge Nachweis nicht, da das H_2O_2 durch das Platin bekannterweise katalytisch zersetzt wird. So versuchte ich, auf indirektem Wege die Puffernatur des H_2O_2 zu beweisen. Ich titrierte 5 ccm der 15proz. „neutralen" Lösung einerseits mit n/10 Säure, andererseits mit n/10 Lauge. Es wurden verbraucht: bis zum Umschlagspunkt des Thymolphthaleins (p_H etwa 10) 0,50 ccm Lauge, gegen Bromphenolblau aber (Umschlag bei etwa 4,0) 3,35 ccm Säure. Die Lösung ist also tatsächlich gepuffert, besonders gegen Ansäuerung. Da ihr ursprüngliches p_H etwa 9,0 (Phenolphthalein intensiv rot, Thymolphthalein farblos) ist, so ist es sicher, daß durch Zusatz dieser Lösung das p_H der Farblösungen gegen die alkalische Seite verschoben wurde. Pufferte ich aber die Farblösungen etwa n/20 stark auf p_H 3,5 bis 4,0, so blieb die umlagernde Wirkung des H_2O_2 aus. Die Lösungen verblaßten zwar langsam infolge der Oxydation, aber selbst konzentrierte Säuren konnten in keinem Zeitpunkt eine Farbvertiefung hervorrufen.

Hierdurch wird das *Karczag*sche Prinzip der präkurrierenden Elektropie unhaltbar. In Elektropie VI. steht: „Überall, wo elektrope Substanzen mit Ladungsstoffen zusammentreffen, verläuft der elektrope Vorgang zu allererst, und nur dann folgt das Einsetzen der anderen chemischen, physikalisch-chemischen und biologischen Reaktionen" (S. 434). Dieser Satz hat für das Gebiet unter p_H 7 überhaupt keine Gültigkeit. Aber auch wo er gültig ist, verliert er seinen Rang als Prinzip. Er ist weiter nichts als Konstatierung der bekannten Tatsache, daß monomolekulare Reaktionen (Tautomerisation der Farbbase in das Carbinol) im allgemeinen schneller verlaufen als polymolekulare (Oxydation des Farbstoffs mittels H_2O_2).

III. System der Ladungsstoffe.

Karczag hat eine Reihe von Substanzen auf ihre elektrope Wirkung auf seine Chemoskope durchgeprüft. Er hat sie einerseits nach ihrer regenerierenden Wirkung auf FS-Carbinol zusammengestellt. Diejenigen unter den organischen Körpern (l. c., S. 394), welche am stärksten regenerieren, sind entweder Säuren oder sauer dissoziierende Salze bzw. Ester, wie z. B. Asparaginsäure, Harnsäure, Glutaminsäure, Alanin usw., bzw. Leucinhydrochlorid, Hydroxylaminsulfat, Amylnitrit usw., oder aber Körper von entschieden saurer Natur, wie Resorcin, Hydrochinon, Acetessigester, Methylacetat, Chlorphenol, Bromal- und Chloralhydrat, oder aber solche, welche notorisch durch Säuren verunreinigt sind, als Formaldehyd, Dextrose, Benzaldehyd, Ol. terebenthinae usw. Dasselbe Bild finden wir bei den anorganischen Körpern (l. c., S. 396). Die regenerierenden sind entweder Ammoniumsalze starker Säuren oder Salze von anderen schwachen Basen, als $Fe^{\cdot\cdot}$, $Fe^{\cdot\cdot\cdot}$, $Pb^{\cdot\cdot}$, $Hg^{\cdot\cdot}$, $Hg_2^{\cdot\cdot}$, $Zn^{\cdot\cdot}$ usw. Sie reagieren alle wegen der hydrolytischen Dissoziation sauer und puffern deshalb energisch gegen eine Verschiebung des p_H nach der alkalischen Seite. Die entfärbenden Substanzen unter den organischen (l. c., S. 395) sind Amine — Anilin, Kreatinin — oder alkalisch reagierende Salze von schwachen Säuren, als z. B. Mononatriumurat, Guanidincarbonat. Auch die anorganischen sind (l. c., S. 395) Puffer von derselben Art: Calciumcarbonat, Natriumacetat, Natriumtellurat, sekundäres Phosphat usw.

Auch die Tabelle der biochemischen Ladungsstoffe (l. c., S. 378) läßt dieselbe Deutung zu. Alle Substanzen der regenerierenden Gruppe sind ziemlich starke Säuren, wie Casein, Nuclein oder durch Säuren verunreinigt, wie Pepsin. Diejenigen aber, welche die Farbstoffe entfärben, sind entweder Kolloide, welche die H-Ionen am schnellsten adsorbieren, als Kohle, Schwefelblume, Kaolin oder basische Puffer, wie Serum- und Ovalbumin, Natriumnucleinat, Trypsin usw. Auch die übrigen als elektrop gedeuteten Vorgänge sind durch eine Verschiebung der $[H^+]$ durch gepufferte Lösungen verursacht. So z. B. die Entfärbung unserer Farbstoffe durch Blutkörperchenemulsionen (l. c., S. 397), durch Serum, Liquor, Exsudat (l. c., S. 404), durch die meisten Bakterien (l. c., S. 408), welche alle ein ziemlich gut gepuffertes p_H von etwa 7 bis 8 besitzen.

Die umlagernde Wirkung von allen bisher untersuchten „Ladungsstoffen" läßt sich also auf Änderung des p_H zurückführen.

IV. Die elektrope Adsorption.

Karczag hat drei Arten von Adsorption unterschieden (l. c., S. 386), und zwar die schon bekannte *„direkte elektrostatische Adsorption"*, bestehend aus der direkten Adsorption von Farbstoffen, dann die

„*elektrope Adsorption*", bestehend aus einer Entfärbung des Farbstoffs und Adsorption des Carbinols, und schließlich die „*elektrope Regenerationsadsorption*", bestehend aus einer Regeneration des Farbstoffs aus dem Carbinol und Adsorption desselben. Es wurde oben bewiesen, daß die Änderung der $[H^+]$ und nicht irgendwelche elektrostatische Kraftwirkung die ausschlaggebende Rolle bei den „elektropen" Umlagerungsprozessen spielt, *folglich kann es keine elektrope Adsorption sui generis geben. Die Farbstoffe müssen mit einem der aktuellen* $[H^+]$ *entsprechenden Farbgrad adsorbiert werden.* Solche Adsorbentia, welche das p_H erhöhen, wie Kohle, täuschen eine „elektrope Adsorption", diejenigen dagegen, welche ihn erniedrigen, wie z. B. Casein, eine „elektrope Regenerationsadsorption" vor. Werden gepufferte Lösungen verwendet, so kann Kohle den Farbstoff oder Casein das Carbinol adsorbieren.

Es wurden zuerst auf p_H 5,5 bis 8,0 gepufferte Lösungen untersucht. Zu 1 ccm der *Sörensen*schen Puffer gab ich 4 ccm 0,2proz. Carbinol von FS, WB, RV und eine kleine Messerspitze Casein hinzu. Der Bodenkörper färbte sich nach 24 Stunden nur dort und nur in solchem Maße, wie die überstehende Flüssigkeit. Wurde die Flüssigkeit abgegossen und der Bodensatz auf dem Filter mehrmals mit destilliertem Wasser gewaschen und nachher mit Säure behandelt, so färbte er sich entsprechend den angewandten Farbstoffen rot, violett bzw. blau. Wandte man aber statt Säure Lauge an, so verschwand die Farbe vollständig; später löste sich auch das Casein auf. Ebenso verhielten sich Baumwolle, Filtrierpapier, Wolle und B. coli, nur daß die durch Säure regenerierbare Färbung bei ihnen nicht immer vorhanden war. Worauf dies beruht, habe ich nicht weiter verfolgt. Schon im Abschnitt II wurde gezeigt, daß auf p_H 3,5 bis 4,0 gepufferte Farblösungen von Kohle nicht umgelagert, jedoch nach mehreren Tagen allmählich durch direkte Adsorption entfärbt wurden.

Ungepufferte Carbinollösungen von FS, RV, WB wurden von Watte, Filtrierpapier oder Wolle selbst nach Erwärmen kaum oder überhaupt nicht regeneriert. Wurden die genannten Substanzen vor dem Versuch mehrere Tage lang mit mehrmals gewechseltem Wasser gewaschen, so verschwand ihr geringes Regenerationsvermögen vollständig, es durfte also auf Verunreinigungen zurückzuführen sein.

Casein in destilliertem Wasser gekocht, bringt das p_H desselben auf etwa 4,5 bis 5 herunter. Dementsprechend regeneriert und adsorbiert es beim Erwärmen alle ungepufferten Farbstofflösungen mit einer dem p_H 4,5 bis 5 entsprechende Farbe.

V. Andere Indikatoren.

Falls das bisher Gesagte richtig ist, so müssen alle Indikatoren, deren Umschlagsbereich zwischen p_H 4 und 8 liegt, sich genau so verhalten wie die *Karczag*schen Chemoskope. Um dies zu beweisen, habe ich das Methylrot, das bei p_H 4,2 bis 6,3 umschlägt, ausgewählt, und zwar deshalb, weil seine Struktur — Carbonsäure eines Azokörpers — sich so weitgehend von derjenigen der *Karczag*schen Chemo-

skope, die alle Triphenylmethankörper und meistens Sulfosäuren sind, unterscheidet. Untersucht wurde die „elektrope Umlagerung" mittels Kochen, Kohlenstäben, H_2O_2, die „Regeneration" durch Säuren und Casein, die „elektrope Adsorption" an Kohle und schließlich die „elektrope Regenerationsadsorption" an Casein. Die Übereinstimmung war vollkommen, mit dem einzigen Unterschied, daß hier nicht der Umschlag farbig-farblos, sondern rot-hellgelb erfolgte.

VI. Theoretisches.

Aus den mitgeteilten Versuchen folgt, daß *die sogenannten elektropen Erscheinungen nicht durch elektrostatische Kräftefelder, wohl aber durch Änderung der Wasserstoffionenkonzentration bedingt sind.* Erstens wurde der direkte Beweis erbracht: Jeder bisher in der Literatur erwähnte „Ladungsstoff" verändert die $[H^+]$ der ungepufferten Lösungen und ruft dementsprechend Entfärbung bzw. Regeneration der *Karczag*schen „Chemoskope" hervor. Falls man aber für die Konstanthaltung der aktuellen $[H^+]$ durch Pufferung sorgt, tritt trotz Anwesenheit von noch so stark oder schwach geladenen „Ladungsstoffen" keine Farbänderung ein. Umgekehrt kann man durch Herstellung von bestimmten $[H^+]$ jede Art Farbänderung an den „elektropen" Farbstoffen hervorrufen.

Die Erklärung dieser Vorgänge liegt auf der Hand: In einer Lösung dieser Farbstoffe sind nach *Hantzsch* folgende drei Körper im dynamischen Gleichgewicht: das Farbstoffion, die undissoziierte quaternäre Farbbase und das isomere Carbinol. Es ist allgemein bekannt, daß freie undissoziierte Ammoniumverbindungen sehr labil sind — man denke nur an das hypothetische NH_4OH. Wird durch Verminderung der H-Ionen die Dissoziation des Farbstoffs zurückgedrängt, so entsteht die labile Farbbase, die aber bald in das stabile Carbinol übergeht: die Lösung wird allmählich entfärbt.

Dadurch wird aber auch dem Prinzip von der Erhaltung des dynamischen Gleichgewichts entsprochen, welches besagt, daß das System bestrebt ist, die Wirkung eines äußeren Zwanges möglichst durch Konzentrationsänderung seiner Bestandteile wettzumachen. Auf unser Beispiel angewendet, folgt daraus, daß bei einer Erhöhung des p_H entweder eine Base aus der Lösung verschwinden oder eine neue Säure in ihm entstehen muß. Quaternäre Ammoniumverbindungen gehören zu den stärksten Basen, dagegen sind Alkohole, besonders diejenigen, bei denen die H-Atome durch negative Radikale, wie z. B. Arylreste, substituiert sind, immer von saurer Natur. Lagert sich die Farbbase in das Carbinol, also eine starke Base in eine schwache Säure um, so wird die Wirkung des äußeren Zwanges, Erhöhung des p_H, vermindert. Erniedrigung des p_H hat selbstverständlich die entgegengesetzte

Wirkung. *Die Änderung des Farbentons zeigt also unmittelbar eine Konzentrationsänderung der Farbstoffionen, bedingt durch die Änderung der* [H⁺], *an.*

Ich spreche meinen Dank dem Herrn Dr. *G. Horváth* aus, der mich während der Arbeit durch Anstellung vieler Parallelversuche wertvoll unterstützte.

Zusammenfassung.

1. Es wurde der Indikatorbereich der „elektropen" Farbstoffe: Rotviolett, Säurefuchsin, Wasserblau, Baumwollblau, Anilinblau w. l., Lichtgrün, Pyrrolblau, Säureviolett, Methylblau F festgelegt.

2. Die unmittelbare Ursache der „elektropen" Farbänderungen ist immer eine Verschiebung der $[H^+]$. Werden die Farblösungen gepuffert, so bleibt jede „elektrope" Umwandlung trotz Anwesenheit von „Ladungsstoffen" aus.

3. Die regenerierenden „Ladungsstoffe" sind entweder Säuren oder saure Puffer, die entfärbenden entweder H-Ionen adsorbierende Körper oder Basen, oder aber basische Puffer.

4. Die einzelnen Farbstoffe werden mit dem der aktuellen $[H^+]$ entsprechenden Farbenton adsorbiert. Sie können nach erfolgter Adsorption auf dem Adsorbens selbst durch Änderung der $[H^+]$ eine Farbvertiefung bzw. Entfärbung erleiden. Es liegt also kein Grund vor, eine besondere „elektrope Adsorption" annehmen zu müssen.

5. Alle Indikatoren, deren Umschlag zwischen p_H 4 bis 8 erfolgt, müssen sich genau so wie die „Chemoskope": Säurefuchsin, Wasserblau, Rotviolett usw. verhalten. Dies wurde an Methylrot bewiesen.

Literatur.

1) *Karczag* und Mitarbeiter, diese Zeitschr. **188**, 345 bis 440, 1923. — 2) *Karczag* und *Bodó*, ebendaselbst **189**, 343, 1923. — 3) *Wankell*, Pflügers Arch. **207**, 104, 1925.

Notiz über die Verarbeitung von Thioharnstoff durch Aspergillus niger v. Tgh.

Von

August Rippel.

(Aus dem Institut für landwirtschaftliche Bakteriologie der Universität Göttingen.)

(Eingegangen am 29. September 1925.)

Eine Mitteilung von *E.* und *G. Nicolas*[1]), worin gezeigt wird, daß Thioharnstoff durch Soja-Urease nicht angegriffen wird, auch von höheren Pflanzen nicht verwertet wird, sondern dazu stark toxisch wirkt, gibt mir Veranlassung, kurz auf das Verhalten von *Aspergillus niger* diesem Körper gegenüber hinzuweisen. *Kastle* und *Elvolve*[2]) hatten bereits festgestellt, daß Thioharnstoff für *Penicillium glaucum*, Hefe, Mikroorganismen aus faulendem Käse gänzlich unangreifbar war, auch eine Nitratbildung aus Thioharnstoff, wenn überhaupt, so nur äußerst langsam erfolge. Ebenso fand *Beesley*[3]) keine Nitratbildung aus Thioharnstoff. Daß allerdings Mikroorganismen nicht ganz ohne Wirkung sind, geht aus einer Mitteilung von *Tanner*[4]) hervor, wonach aus Thioharnstoff durch Hefe Schwefelwasserstoff gebildet wird.

Für *Aspergillus* bildet einmal Harnstoff eine ausgezeichnete Stickstoffquelle; sodann vermag dieser Pilz kräftig Schwefel zu oxydieren, und zwar organisch gebundenen, wie denjenigen des Cystins (s. unten), ferner auch, wie ich unlängst gezeigt habe[5]), elementaren in Form von sublimiertem Schwefel. Gerade das Verhalten dem Thioharnstoff gegenüber konnte also von Interesse sein.

Es wurde ein Versuch angesetzt in 500er Kolben mit 100 ccm Nährlösung, die 10 Proz. Rohrzucker, 0,1 Proz. KH_2PO_4, 0,02 Proz. $MgSO_4$, 0,2 Proz. Thioharnstoff enthielt, diesen also als Stickstoffquelle. Nach Impfung erfolgte, bei Aufstellung im Brutzimmer (etwa 25°), sofort Keimung, aber keine Weiterentwicklung. Daher wurde 9 Tage später mit 5 ccm sterilen Wassers 0,1 g KNO_3 (schwefelsäurefrei) hinzugefügt; es erfolgte jedoch kein Wachstum innerhalb 3 Tagen,

1) C. r. **180**, 1286, 1925.
2) Amer. Chem. Journ. **31**, 550, 1904.
3) Journ. Chem. Soc. London **105**, 1014, 1914.
4) Amer. Chem. Journ. **40**, 663, 1918.
5) *A. Rippel*, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **62**, 290, 1924.

einer Zeit, in der *Aspergillus* normalerweise kräftige Decken bildet. Auf die Giftwirkung des Thioharnstoffs sei hier jedoch nicht eingegangen.

Nach diesen 3 Tagen wurden die Kulturen mit dem KNO_3-Zusatz aufgekocht und frisch beimpft; es erfolgte sofortige Keimung, darauf völliger Stillstand, darauf ganz allmählich erst schwaches Wachstum, aber nur eine dünne, schleimige Decke, die frisch (Wasser mit der Hand gut ausgepreßt) nur 0,5 g je Kolben wog bei Abbruch des Versuchs nach etwas über 2 Monaten, von der zweiten Impfung an gerechnet. Die Bestimmung des gebildeten Sulfats ergab in der gesamten Kulturflüssigkeit:

ungeimpft	0,0400	0,0409 g $BaSO_4$
geimpft	0,0637	0,0657 g $BaSO_4$

Somit waren im Mittel entsprechend 0,0242 g $BaSO_4$ Schwefelsäure aus Thioharnstoff gebildet, oder es waren, abgerundet, 4 Proz. des Thioharnstoffschwefels zu Sulfat oxydiert, eine sehr geringe Menge, wenn man demgegenüber die Oxydation des Cystins betrachtet.

In einer Nährlösung von 5 Proz. Rohrzucker, 0,1 Proz. KH_2PO_4, 0,02 Proz. $MgSO_4$, 0,25 Proz. Cystin bei 50 ccm Nährlösung in 250er Kolben wurden folgende Mengen Sulfat gebildet (Bestimmung in 75 ccm der auf 100 aufgefüllten Kulturflüssigkeit) nach 17tägiger Kultur:

ungeimpft	0,0069	0,0071 g $BaSO_4$
geimpft	0,0917	0,0691 g $BaSO_4$

Also im Mittel waren entsprechend 0,0734 g $BaSO_4$-Schwefelsäure in drei Viertel der Kulturflüssigkeit gebildet; d. h. 40 Proz. des Cystinschwefels waren zu Schwefelsäure oxydiert. Diese Zahlen wären wohl noch höher gewesen, wenn nicht das in Wasser fast unlösliche Cystin erst im Verlaufe der Kultur ganz allmählich in Lösung ginge. Daher rühren auch die Unregelmäßigkeiten in den Parallelen, die obiger Versuch zeigt. Die Mycelentwicklung war, der kräftigen Oxydation entsprechend, sehr gut; die Decken wogen frisch ausgedrückt 3,0 und 2,5 g. Dabei ist diese Schwefelsäurebildung in kurzer Zeit und mit Cystin als alleinige N-Quelle eingetreten.

Thioharnstoff ist also für Aspergillus zwar nur in geringem Maße zugänglich, wird aber doch allmählich nachweisbar angegriffen unter Oxydation des Schwefels zu Schwefelsäure; er verhält sich darin wie Rhodansalze, worauf hier jedoch nicht weiter eingegangen werden soll. Es sei noch darauf hingewiesen, daß *Iwanoff*[1]) zeigte, daß Thioharnstoff von höheren Pilzen (Basidiomyceten) aufgenommen wird, allerdings nicht in Gegenwart von Harnstoff. Ob er dabei abgebaut oder verarbeitet wird, wurde von *Iwanoff* nicht geprüft.

[1]) Diese Zeitschr. 150, 115, 1924.

Beiträge zur Lichtabsorption des Hämatoporphyrins. III.

Von

Ladislaus Kajdi.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der k. ung. Universität Budapest.)

(Eingegangen am 29. September 1925.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Bei dem eminenten biochemischen Interesse, das dem Hämatoporphyrin bzw. den ihm verwandten Porphyrinen zurzeit mit Recht entgegengebracht wird, dürfte es angebracht sein, über Erfahrungen zu berichten, die ich anläßlich meiner lange fortgesetzten spektrometrischen Untersuchungen an Lösungen von selbsthergestelltem Hämatoporphyrin (fürderhin abgekürzt mit Hph. bezeichnet) sammeln konnte. Diese Erfahrungen beziehen sich teils auf die Schwierigkeiten der Lagebestimmung von Absorptionsstreifen überhaupt, teils auf gewisse Eigentümlichkeiten im spektralen Verhalten des Hph. in gewissen Lösungen, teils auf Veränderungen, die das Spektrum von Hph.-Lösungen durch Belichtung erfährt.

A. Apparatur.

Die spektrometrischen Bestimmungen haben sich über 2 Jahre lang hingezogen; sie wurden mit einem Prismenapparat älterer Konstruktion begonnen und mit einem *Zeiss*schen Gitterspektrometer fortgesetzt.

Das im Institut befindliche Prismenspektrometer besitzt eine von 0 bis 100 reichende Orientierungsskala, die mittels zahlreicher Emissionslinien kalibriert wurde. Da an der Skala bloß zweistellige Zahlen direkt abgelesen werden können, bereits die erste Dezimale aber geschätzt werden muß, ist die letzte Ziffer der in $\mu\mu$ ausgedrückten dreistelligen Kalibrierungswerte recht unsicher, und zwar um so mehr, je näher sich die Ablesungsstelle zum roten Spektralende befindet, denn es entspricht an unserem Prismenapparat dem Intervall zwischen 90 bis 91 das Strahlenbündel von den Wellenlängen 450,7 bis 449,0 $\mu\mu$, also ein Intervall von 1,7 $\mu\mu$, dem Skalenintervall zwischen 18 bis 19 aber das Strahlenbündel von den Wellenlängen 746,0 bis 735,9, also ein Intervall von 10,1 $\mu\mu$.

Am Gitterspektrometer, das mit einer (immer wieder mit Na-Licht kontrollierten) Wellenlängenskala von höchster Vollendung versehen ist, waren die Ablesungen natürlich ungleich genauer. Es ist also selbstverständlich, daß zwischen alten und neuen Beobachtungen mehr oder minder große Unterschiede bestehen.

B. Die untersuchten Präparate.

Hph. wurde nach dem von *Fischer* und *Willstätter*[1]) ausgearbeiteten Verfahren dargestellt. Defibriniertes Blut wird zentrifugiert, das Blutkörperchensediment mit demselben Volumen destillierten Wassers und dem halben Volumen Äther versetzt und 12 bis 24 Stunden lang im Scheidetrichter stehengelassen. Nach Ablauf dieser Zeit wird die untere klare Schicht abgelassen, mittels eines Luftstromes von Äther befreit und in das dreifache Volumen schwach siedenden, 4,5 g Kochsalz pro Liter enthaltenden Eisessigs mit einer Geschwindigkeit von 300 ccm pro ½ Stunde eingetropft. Nachdem man den Eisessig noch ¼ Stunde lang in schwachem Sieden erhalten hat, läßt man langsam während ¼ Stunde das halbe Volumen destillierten Wassers hinzufließen. Nach erfolgter Abkühlung haben sich bereits ansehnliche Mengen von Hämin abgesetzt; die darüber befindliche Flüssigkeit wird dekantiert und der den Niederschlag enthaltende Flüssigkeitsrest mit Wasser auf das Vierfache verdünnt und durch ein Filter gegossen; der Niederschlag wird daselbst mit Wasser säure- und chlorfrei, dann mit Alkohol und Äther gewaschen. Das auf obige Weise rein dargestellte Hämin wird in Bromwasserstoffsäure-Eisessig durch Schütteln im Wasserbad von 42° C gelöst, wobei etwa 25 ccm der Säure pro 1 g des Hämins verwendet werden. Auch nach längerem Schütteln und Stehenlassen bleibt stets ein Rest von ungelöstem Hämin zurück. Von diesem wird abfiltriert, das Filtrat mit destilliertem Wasser auf das Sechsfache verdünnt und nun so lange tropfenweise mit einer konzentrierten Lösung von essigsaurem Natrium versetzt, bis keine weitere Niederschlagsbildung mehr erfolgt. Zum Schluß wird der auf einem Filter gesammelte Niederschlag mit Wasser bromfrei gewaschen und getrocknet.

Präparat I. Das Hämin wurde aus Pferdeblut bereitet und in selbstbereitetem HBr-Eisessig gelöst.

Präparat IIa und IIb. Das Hämin wurde aus Rinderblut bereitet und in selbst bereitetem HBr-Eisessig gelöst.

Präparat III, IV, V und VI. Das Hämin wurde aus Rinderblut bereitet und in *Kahlbaum*schem HBr-Eisessig (spezifisches Gewicht = 1,41) gelöst; das fertige Hph. wurde zur Entfernung des Eisens noch einmal in verdünnter Natronlauge gelöst und mit Essigsäure gefällt.

Präparat VII. Seinerzeit von *K. Goto* in diesem Institut auf obige Weise dargestellt.

Es ist noch zu bemerken, daß es einige Stunden dauerte, bis die Präparate I und II im selbstbereiteten HBr-Eisessig sich lösten, offenbar, weil die Sättigung mit HBr nicht vollkommen gelungen war. An den übrigen Präparaten ging der Lösungsprozeß im *Kahlbaum*schen HBr-Eisessig weit rascher vor sich.

Das Umkristallisieren der Präparate aus Äther nach *Fischer* und *Willstätter* war, da die erforderlichen großen Äthermengen aus den Mitteln des Instituts nicht zu beschaffen waren, mir nicht möglich. Ich konnte mich also von der Reinheit der verschiedenen Präparate nicht anders überzeugen, als indem ich an ihnen die Lage der Absorptionsstreifen in verschiedenen Lösungsmitteln bestimmte und meine Befunde mit den aus der Literatur als verläßlich bekannten verglich.

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in nachfolgender Tabelle I zusammengestellt. Die am Prismenspektrometer abgelesenen Daten sind

[1]) Hoppe-Seylers Zeitschr. f. phys. Chem. **87**, 456, 1913.

Tabelle I.

a) Lösungsmittel: Äthylalkohol.

Streifen	*Schumm* [1])	Eigene Beobachtungen	
		Pr	*G*
I	623,3 } 619,7 } 621,7	622	621,6
	602,6	596	598,8
II	580,0	—	—
	571,2	575	572,1
	562,7	560	562,1
	554,3	—	—
III	—	543	541,5
	533,6	534	532,2
	526	528	524,2
	518	—	—
IV	497	499	495,7
	—	484	—

b) Lösungsmittel: Äthyläther.

Streifen	*Fischer* und *Willstätter* [2])	Eigene Beobachtungen *G*
I	624,5	624,3
II	578 568,5	577,9 569,4
III	529	529,6
IV	496,5	495,3

c) Lösungsmittel: n/10 wässerige Kalilauge.

Streifen	*Schumm* [1]) 0,5 bis 5,0 proz. Lösungen von Soda oder KOH als Lösungsmittel	Eigene Beobachtungen	
		Pr	*G*
I	619,5	620	620,7
II	567	575 570	569,4
III	542	544	540,8
IV	507	506	505,4

d) Lösungsmittel: 25proz. Salzsäure.

Streifen	*Schumm* [1])	Eigene Beobachtungen		
		Pr		*G*
I	595,3	598	599	596,7
II	574,5	576	560	575,1
III	552	555		552,4
IV	526	—	527	—
V	514 } 507 } 511	512	512	—

[1]) Hoppe-Seylers Zeitschr. f. phys. Chem. **90**, 1, 1914.
[2]) Ebendaselbst 87, 468, 1913.

mit *Pr*, die am Gitterspektrometer abgelesenen mit *G* bezeichnet und zwar sind die an verschiedenen Präparaten und zu verschiedenen Gelegenheiten erhaltenen Werte nicht einzeln angeführt, sondern jeweils bloß die Mittelwerte angegeben. Eventuelle Vor- oder Nachschatten habe ich nicht berücksichtigt. Naturgemäß waren sie an weniger konzentrierten Lösungen sehr oft überhaupt nicht zu sehen.

Als Lösungsmittel wurden verwendet: a) Äthylalkohol, b) Äthyläther. c) n/10 Kalilauge, d) 25proz. Salzsäure.

Fassen wir die Ergebnisse dieser vergleichenden Untersuchungen zusammen, so ergibt sich folgendes:

a) *Alkoholische Lösung.* Meine am Gitterspektrometer erhaltenen Werte weichen von den *Schumm*schen um weniger als $\pm$ 2 $\mu\mu$ ab; eine größere Abweichung besteht bloß am zweiten Streifen; die am Prismenspektrometer abgelesenen Werte weichen stärker ab. Doch muß bemerkt werden, daß der *Schumm*sche bei 580,0, 554,3 und bei 518 $\mu\mu$ gelegene Streifen von mir nicht gesehen wurde; den von mir bei 541,5 $\mu\mu$ beobachteten Streifen aber *Schumm* nicht sah.

b) *Ätherische Lösung.* Die Übereinstimmung ist am ersten und zweiten Streifen eine vorzügliche, aber auch die größte Abweichung, die am vierten Streifen, beträgt kaum mehr als 1 $\mu\mu$.

c) *Lösung in wässeriger KOH.* Die größte Abweichung fand sich am zweiten Streifen im Betrage von etwa 3 $\mu\mu$, an den übrigen Stellen betrug sie weniger als 2 $\mu\mu$.

d) *Lösung in 25proz. HCl.* An den drei ersten Streifen stimmen die am Gitterspektrometer erhaltenen Befunde gut mit den *Schumm*schen überein; hingegen war der vierte und fünfte Streifen offenbar infolge starker Verdünnung der Hph.-Lösung nicht zu sehen. Die am Prismenspektrometer erhaltenen Daten weisen stärkere Abweichungen auf; sie weichen bezüglich des zweiten und dritten Streifens auch voneinander erheblich ab und mußten dementsprechend in zwei Gruppen gesondert werden und wurden auch die Mittelwerte gesondert berechnet (über die Ursache dieser Abweichung siehe weiter unten auf S. 481).

Alles in allem läßt sich sagen, daß *die Reinheit der von mir untersuchten Präparate*, sofern sie durch spektrometrische Prüfung gewährleistet werden kann, eine *hinreichende* war.

C. Schwierigkeiten in der Lagebestimmung der Absorptionsstreifen.

Charakteristische Daten über die Stelle der maximalen Lichtabsorption von Farbstofflösungen im Gebiete der so wichtigen Absorptionsstreifen müßte man eigentlich auf spektrophotometrischem Wege am genauesten erhalten. Nun sind aber gerade im Gebiete so mancher Absorptionsstreifen, die mit dem Spektroskop noch ganz gut wahrzunehmen sind, die Unterschiede in der Lichtabsorption benachbarter Spektralstellen geringer, als der oft 2 bis 3 Proz. betragende Versuchsfehler bei der spektrophotometrischen Bestimmung ausmacht; so daß hier von der spektrophotometrischen Prüfung weniger zu erwarten ist als von spektroskopischen bzw. spektrometrischen Verfahren.

Aber auch die spektrometrischen Verfahren leiden, obzwar die zurzeit erzeugten spektrometrischen Apparate einen hohen Grad von

Genauigkeit haben, an gewissen, vom Apparat unabhängigen Unsicherheiten. Eine solche Unsicherheit wird bereits durch die Asymmetrie gewisser Absorptionsstreifen bedingt. Würde unser Auge empfindlich genug sein, die Stelle der maximalen Absorption innerhalb eines solchen asymmetrischen Streifens genau fixieren zu können, so wäre ja die Lage des Streifens ohne weiteres eindeutig definierbar; meistens wird man sich aber damit begnügen müssen, daß man die Lage der Ränder abliest und hieraus einfach die Streifenmitte berechnet. Nun weichen die Ränder eines Absorptionsstreifens, sofern es sich um einen ideal symmetrischen Streifen handelt, beim Verdünnen der Lösung gleichmäßig zusammen; wenn die Konzentration der Lösung zunimmt, gleichmäßig auseinander, so daß die aus den Rändern berechnete Lage der Streifenmitte (die in diesem Falle auch mit der Stelle der maximalen Absorption zusammenfällt) stets unverändert an derselben Stelle gefunden wird. Ist hingegen der Absorptionsstreifen asymmetrisch, d. h. das Absorptionsmaximum exzentrisch gelagert, so wird zwar der Streifen in verdünnteren Lösungen wieder schmäler, in konzentrierteren Lösungen breiter erscheinen, jedoch derart, daß der freie Rand der helleren Streifenhälfte, in verdünnteren Lösungen stärker einwärts, in konzentrierteren stärker nach außen rückt als der freie Rand der dunkleren Streifenhälfte, man daher die Streifenmitte, die aus der Lage der Ränder berechnet wird (natürlich nicht das unveränderlich fixe Absorptionsmaximum!) in verdünnteren Lösungen nach dem exzentrisch gelegenen Absorptionsmaximum, in konzentrierten Lösungen in entgegengesetzter Richtung verlagert finden wird.

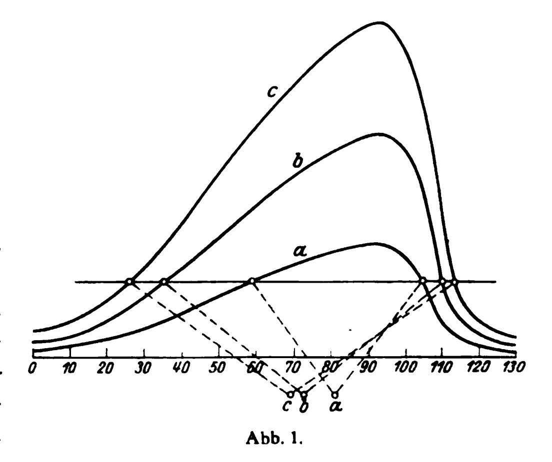


Abb. 1.

Diese Erscheinung läßt sich durch Abb. 1 am einfachsten veranschaulichen. In der Abb. 1 ist die Lichtabsorption dreier verschieden konzentrierter Lösungen desselben Stoffes im Gebiete eines asymmetrischen Absorptionsstreifens durch drei übereinander gelagerte Kurven dargestellt; durch die der Abszisse parallel verlaufende Horizontale ist die Grenze der in Form einer Verdunkelung des Spektrums vom Auge eben noch wahrnehmbaren Lichtabsorption angedeutet. Durch den sanften Anstieg der Kurven von der einen Seite her und den steilen

Abfall nach der anderen Seite hin wird bedingt, daß ihre Schnittpunkte mit der genannten Horizontalen dort weiter auseinander stehen, hier näher aneinander gelegen sind, was zur unmittelbaren Folge hat, daß im spektroskopischen Bilde der freie Rand der helleren Hälfte seine Lage bei geänderter Konzentration der Lösung stärker verändert als der der dunkleren Hälfte.

Nachfolgend ein charakteristisches Beispiel:

Gleiche Volumina von konzentrierter Schwefelsäure und Äthylalkohol wurden unter Kühlung vermischt, und in etwa ½ ccm dieses Gemisches wurde Hph.-Präparat V gelöst. Von dieser konzentrierten Lösung ließ ich 3, 4, 6, 8 usw. Tropfen zu dem Alkohol-Schwefelsäurestammgemisch fließen, so daß die Säure- und Alkoholkonzentration unverändert blieben und bloß der Farbstoffgehalt zunahm. Die Ablesungen wurden mittels des Gitterspektrometers ausgeführt, und wurden Spaltbreite und Lichtquelle während der ganzen Versuchsreihe nicht geändert.

Hph.-Lösung Tropfen	I. Streifen	II. Streifen	III. Streifen
3	595,9		551,9
4	596,3		551,9
6	596,2		552,2
8	596,7		552,4
12	597,7		552,6
14	597,8		552,5
17	598,6	578,0	552,4
20	598,7	578,3	552,4
25	599,0	578,5	552,5

Die sehr deutliche Verschiebung der ersten Streifenmitte nach dem roten Ende des Spektrums (die in weit geringerem Maße vielleicht auch am dritten Streifen wahrzunehmen ist) läßt sicher annehmen, daß der erste Streifen stark asymmetrisch ist.

Ich muß aber auch hinzufügen, daß mit 25proz. wässeriger HCl (statt H_2SO_4 und Alkohol) in ganz analoger Weise ausgeführte Versuche nicht immer zu so klaren Ergebnissen geführt haben.

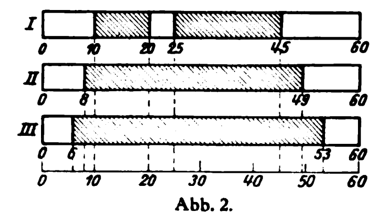


Abb. 2.

Fließen infolge zunehmender Konzentration der untersuchten Lösung zwei verschieden breite Absorptionsstreifen zusammen, so wird die Mitte des nunmehr vereinten Streifens nicht in der halben Entfernung zwischen den früher gesondert bestimmbaren Streifenmitten liegen, sondern näher zur Mitte des breiteren Streifens, und zwar um so näher, je konzentrierter die Lösung ist. In Abb. 2 gehört Spektrum I zu einer

verdünnten Farbstofflösung; es enthält zwei gleich dunkle Streifen, jedoch ist der zweite doppelt so breit als der erste. Die Streifenränder reichen von 10 bis 20 und von 25 bis 45, die Streifenmitten liegen bei 15 bzw. 35, die halbe Entfernung zwischen beiden Streifenmitten liegt bei 25.

Spektrum II gehört zu einer konzentrierteren Lösung, in der der erste Streifen von 8 bis 22 reicht, der zweite aber von 21 bis 49. Die beiden Streifen sind also zusammengeflossen; der neue Streifen reicht von 8 bis 49 und die Streifenmitte liegt bei 28½, also wohl zwischen den beiden ursprünglichen Streifenmitten, jedoch gegen den breiteren Streifen zu verschoben.

Spektrum III gehört einer noch konzentrierteren Lösung an; der linke Rand des konfluierten Streifens liegt bei 6, der rechte bei 53, also die Streifenmitte noch weiter verschoben, bei 29½.

Auf diese Weise ist der Unterschied in der Lage der Absorptionsstreifen zu erklären, der mich zwang, die Streifenmitten, die ich an Lösungen von Hph. in 25proz. HCl erhielt (s. S. 478 unter *Pr.*) in zwei Gruppen zu teilen. Die links stehenden Daten beziehen sich auf verdünnte Lösungen, in denen es gerade dem geringen Farbstoffgehalt zuzuschreiben ist, daß einerseits der vierte Streifen überhaupt nicht, der zweite und dritte aber deutlich gesondert zu sehen waren; die rechts stehenden Daten aber gehören zu konzentrierten Lösungen, charakterisiert durch den deutlich sichtbaren vierten Streifen, gleichzeitig aber durch das Zusammenfließen des zweiten und dritten Streifens. Da der dritte Streifen der breitere ist — anläßlich einer dieser Untersuchungen lag der zweite Streifen bei 579,0 bis 572,7 $\mu\mu$, der dritte Streifen bei 563,9 bis 539,7 $\mu\mu$ —, liegt die neue Streifenmitte zwar zwischen den beiden früheren, jedoch gegen den dritten Streifen zu verschoben. Ist zudem noch einer der beiden konfluierenden Streifen asymmetrisch oder sind es beide, so ist die Verlagerung der Streifenmitte in kaum übersehbarer Weise kompliziert.

Nach alle dem *hängt also die Lage der Streifenmitten, falls es sich um asymmetrische bzw. konfluierende Streifen handelt, von der Konzentration der untersuchten Lösung ab*; es ist daher begreiflich, daß die Unterscheidung zwischen Farbstoffen mit einander ähnlichen Spektren, wie dies insbesondere bezüglich der verschiedenen Porphyrine der Fall ist, auf sehr erhebliche Schwierigkeiten stößt. Um zu eindeutigen Resultaten zu kommen, müßte die Lage der Streifenmitte bei einer ganz bestimmten Konzentration ermittelt bzw. der gesetzmäßige Zusammenhang zwischen Konzentration und Lage der Streifenmitte in eigens zu diesem Zwecke ausgeführten Versuchen festgestellt werden.

D. Verschiebung der Absorptionsstreifen im Hph.-Spektrum je nach der Konzentration der zur Lösung verwendeten Säure bzw. Lauge.

Saures Hph.-Spektrum.

Es wurde bereits von *Garrod*[1]) erwähnt, besonders aber von *Schumm*[2]) präzisiert, „daß die ganze Gruppe der Absorptionsstreifen sich mit steigendem Gehalt an HCl bedeutend nach dem roten Ende des Spektrums verschiebt". Dies ist auch nach meinen Erfahrungen der Fall, jedoch nicht immer; denn werden die Versuche in einer ganz bestimmten Weise. wie nachstehend gezeigt werden soll, ausgeführt. so läßt sich erreichen, daß die *Lage der Streifen bei verschiedener Säurekonzentration unverändert bleibt.*

Da laut unserer unter C. vorausgeschickten Erörterungen eine Verlagerung der Streifenmitten bereits infolge der Änderung der Hph.-Konzentration eintreten kann, mußte ich in den nachfolgend beschriebenen Versuchen dafür sorgen, daß in den zu vergleichenden Lösungen die Säurekonzentration zwar verschieden, die Hph.-Konzentration aber genau die gleiche sei. Letzteres konnte entweder dadurch erreicht werden, daß ich gleiche Volumina der Säuregemische von abnehmendem Säuregehalt mit genau denselben Volumen einer alkoholischen Hph.-Lösung versetzte; oder aber, wenn der Zusatz von Alkohol unerwünscht war, dadurch, daß ich eine Reihe von Eprouvetten mit demselben Volumen einer ätherischen Hph.-Lösung beschickte, den Äther bei Zimmertemperatur verdampfen ließ und den Rückstand in der Säure von abnehmender Konzentration löste. Nachfolgende Versuche wurden mittels des Gitterspektrometers ausgeführt.

a) Gleiche Mengen von Hph.-Präparat V (mittels der Äthermethode verteilt) in Salzsäure und in Schwefelsäure gelöst:

HCl Proz.	I. Streifen	III. Streifen	H_2SO_4 Proz.	I. Streifen	III. Streifen
25	595,7	550,9	66	597,3	552,1
5	592,9	549,6	33	594,2	549,9
1	591,4	549,2	16,5	592,7	549,3
0,2	591,2	547,5	8,25	592,5	548,2
			4,12	592,1	548,3
			2,06	591,4	548,0
			1,03	591,3	548,0
			0,51	591,6	547,7
			0,26	590,4	547,3

[1]) *A. E. Garrod*, Journ. of Phys. **13**, 598, 1892; zitiert bei *Hans Günther*, Die Bedeutung der Hämatoporphyrine usw. in Ergebn. d. allgem. Pathol. u. patholog. Anat. Jahrg. XX, I. Abteilung, S. 624.

[2]) *O. Schumm*, Hoppe-Seilers Zeitschr. f. phys. Chem. **90**, 8, 1914.

Also hat mit *sinkender Säurekonzentration* in der Tat eine *Verschiebung der Streifen nach dem violetten* Ende des Spektrums stattgefunden. (Was gleichbedeutend ist mit der Verschiebung nach dem *roten* Ende bei *zunehmender* Säurekonzentration.)

Dasselbe war der Fall, als ich zu jeder Probe der vorangehenden HCl-Reihe 1/3 bzw. der Schwefelsäurereihe 1/4 Volumen Alkohol hinzugefügt habe, wodurch der Hph.-Gehalt zwar herabgesetzt wurde, dies jedoch in allen Proben je einer Reihe in demselben Ausmaß geschah.

HCl Proz.	Alkohol Proz.	I. Streifen	III. Streifen	H_2SO_4 Proz.	Alkohol Proz.	I. Streifen	III. Streifen
16,7	33	595,4	550,7	50	25	595,7	551,6
3,2	33	593,0	549,1	12,5	25	593,1	549,0
0,67	33	592,0	547,7	6,25	25	592,1	548,9
0,15	33	591,2	547,7	1,56	25	591,7	548,0
				0,78	25	591,8	547,9
				0,39	25	591,4	547,7

Zu ganz anderen Ergebnissen gelangte ich in einer weiteren Versuchsreihe, in der Alkohol in größerer Konzentration angewendet wurde.

Gleiche Volumina von 25proz. HCl und Alkohol bzw. konzentrierter H_2SO_4 und Alkohol wurden vermischt; aus beiden Stammlösungen wurde durch weitere Verdünnung mit Alkohol je eine Reihe von Mischungen hergestellt, die Säure in abnehmenden Konzentrationen, Alkohol in zunehmenden hohen Konzentrationen enthielten und zu jeder dieser Mischungen genau dieselbe Menge einer alkoholischen Lösung von Hph.-Präparat V hinzugefügt.

HCl Proz.	Alkohol Proz.	I. Streifen	III. Streifen	H_2SO_4 Proz.	Alkohol Proz.	I. Streifen	III. Streifen
12,5	50	595,3	551,0	50	50	595,2	550,9
6,25	75	595,2	551,0	25	75	594,9	550,4
3,12	87,5	594,9	551,5	12,5	87,5	594,7	550,6
1,36	93,75	595,2	551,3	6,25	93,7	594,9	550,5
				3,12	96,9	594,6	550,4
				1,56	98,4	594,4	550,2

Hier waren also die Absorptionsstreifen trotz der verschiedenen Säurekonzentrationen innerhalb der zulässigen Versuchsfehler stets an derselben Stelle, und zwar dort geblieben, wo sie in den vorangehenden Versuchsreihen im Falle der stärksten Säurekonzentration lagen. (Nur in den allerersten Gliedern der H_2SO_4-Reihe ist eine geringe Verschiebung wahrzunehmen, und zwar dort, wo die Alkoholkonzentration unvermittelt von 50 auf 75 bzw. auf 87 Proz. ansteigt.)

Das soeben geschilderte Verhalten des Hph.-Spektrums läßt sich vielleicht wie folgt erklären: Hph. ist eine schwache zweibasische Säure. Wird es in Wasser gelöst, das sehr wenig Säure enthält, so ist es bis

zu einem gewissen Grade dissoziiert, und durch die Anwesenheit einer gewissen Anzahl von Hph.-*Anionen* wird ein Spektrum bedingt, in dem die Absorptionsstreifen *violettwärts* verschoben sind. Steigert man die Konzentration der Säure, so wird die Dissoziation des Hph. nach Maßgabe des Säurezusatzes zurückgedrängt, die Zahl der *undissoziierten Moleküle* nimmt zu, und diese bedingen ein Spektrum, in dem die Absorptionsstreifen *rotwärts* verschoben sind. Ist Alkohol in mäßiger Konzentration, etwa unterhalb 40 Proz., vorhanden, so wird an obigen Verhältnissen nichts geändert, und hängt die Art des Spektrums nur von der Säurekonzentration im obigen Sinne ab. Wird hingegen Alkohol in großer Konzentration verwendet, so wird die Dissoziation des Hph. unabhängig davon, ob Säure in größerer oder in geringerer Konzentration vorhanden ist, gehemmt bzw. vereitelt: es werden also die *undissoziierten Moleküle* überwiegen und die Absorptionsstreifen bei jeder Säurekonzentration *rotwärts* verschoben erscheinen.

Für die Wahrscheinlichkeit dieser Erklärungsart spricht auch das Verhalten des Spektrums, wenn Hph. in organischen, also an und für sich weit schwächeren Säuren gelöst wird; denn auch, wenn konzentrierte organische Säuren verwendet werden, ist, wie aus nachstehender Zusammenstellung ersichtlich, das Spektrum der Hph.-Lösung (Präparat V) ähnlich dem, das man bei Verwendung stark verdünnter HCl oder H_2SO_4 ohne Alkoholzusatz erhält: auch durch konzentrierte Lösungen organischer Säure wird die Dissoziation des Hph. wenig beeinflußt, so daß infolge der Anwesenheit von Hph.-Anionen die Streifen violettwärts verschoben erscheinen.

Lösungsmittel	I. Streifen	III. Streifen
Ameisensäure	592	548,5
Milchsäure	593,5	549,6

Alkalisches Hph.-Spektrum.

Nach *Garrod*[1]) werden die Absorptionsstreifen des Hph. mit zunehmender Konzentration der Säure zwar nach den roten, mit zunehmender Konzentration der Lauge aber nach dem *blauen* Spektralende verschoben; nach *Schumm*[2]) findet innerhalb der von ihm verwendeten Konzentrationen der Na_2CO_3- und KOH-Lösungen von 0,5 bis 5,0 Proz. „. . . keine nennenswerte Änderung des Ortes der Streifen" statt.

[1]) l. c.
[2]) l. c., S. 12.

Nach meinen Erfahrungen hängt die Lage der Absorptionsstreifen in alkalischen Hph.-Lösungen von der Laugenkonzentration wohl ab, und zwar findet ebenso wie bei der Säure —, im Gegensatz zu *Garrod*, mit abnehmender Konzentration eine Verschiebung gegen Blau statt (was gleichbedeutend ist mit der Verschiebung nach Rot mit zunehmender Konzentration.)

Nachstehend sind die Ergebnisse einer kürzeren und einer längeren, mittels des Gitterspektrometers ausgeführten Versuchsreihe mitgeteilt; innerhalb je einer Versuchsreihe wurde das Hph. (Präparat V) in gleicher Konzentration verwendet.

Wässerige KOH	I. Streifen	II. Streifen	III. Streifen	IV. Streifen
Gesättigt	628,8	575,9	545,0	510,2
n/10	620,9	571,3	540,4	504,6
1/2 gesättigt	628,6	576,2	547,6	508,9
1/4 „	623,3	572,2	543,9	509,0
1/8 „	621,0	570,0	542,5	505,9
1/16 „	621,0	569,9	541,8	505,9

Wurden hingegen alkoholische Lösungen von Kalilauge verwendet so war ebenso wie in den Säureversuchen keine ausgesprochen gerichtete Verschiebung in der Lage der Absorptionsstreifen zu beobachten, wobei allerdings zu bemerken ist, daß die Konzentration des Hph. (Präparat V) im nachstehenden ersten und dritten Versuch wohl die gleiche, im zweiten aber eine abweichende war.

Alkoholische KOH	I. Streifen	II. Streifen	III. Streifen	IV. Streifen
Gesättigt	620,6	566,6	534,7	496,8
Verdünnt	621,1	567,5	532,1	498,6
Sehr stark verdünnt	619,4	569,8	534,3	499,1

Diese Erscheinungen lassen eine ähnliche Deutung zu, wie oben in den Säureversuchen angegeben.

E. Veränderung des Hph.-Spektrums unter dem Einfluß des Sonnenlichts.

Über die Veränderung, die das Hph.-Spektrum infolge der Belichtung erfährt, liegen bloß spärliche Daten vor. So sah *Schumm*[1]) bei der spektrographischen Aufnahme einer 10 Minuten lang mit Nernstlicht belichteten Lösung von Hph.-Chlorhydrat in 0,1proz. KOH einen neuen Streifen in Blau bei 461 $\mu\mu$ auftreten, desgleichen auch[2]) in der

[1]) Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **90**, 14, 1914.
[2]) Ebendaselbst **98**, 155, 1916.

belichteten alkalischen Lösung des Farbstoffs, der aus dem Harn eines Porphyrinurikers isoliert wurde. In neuester Zeit fanden *Fischer* und *Kögl*[1]), daß im Spektrum des Ooporphyrinesters nach Belichtung mit Bogenlicht ein neuer Streifen bei 676 bis 661,2 $\mu\mu$ auftrat, wobei „der charakteristische Spektralbefund verschwand".

Um dieser Frage näher zu treten, habe ich eine große Reihe von Versuchen ausgeführt, in denen Hph. in verschiedenen Lösungsmitteln gelöst, in Medizinflaschen eingefüllt und für einige Stunden dem direkten Sonnenlicht ausgesetzt wurde.

Aus den Ergebnissen der Ablesungen wurden die Streifenmitten berechnet und in Tabelle II zusammengestellt. Die Ablesungen wurden jedesmal vor und nach der Belichtung, und zwar mit alleiniger Ausnahme des in der Tabelle zuerst befindlichen Versuchs, mit dem Prismenspektrometer ausgeführt.

Tabelle II.

a) Lösungsmittel: Wässerige Alkalilösungen.

Präparat	Lösungsmittel	Vor der Belichtung				Nach der Belichtung					Belichtungsdauer
V	n/10 KOH . . .	620,0	570,8	540,4	504,0	**654,9**	624,1	568,8	539,0	504,0	3h
						644,2	619,9	567,2	540,7	505,2	6
						638,8	615,5	572,5	539,7	503,7	12
III	„	619	568	542	507	**646**	617	568	541	503	6 30'
II b	1 proz. Li_2CO_3 .	628	579	547	514	**652**	625	575	542	508	8
II b	1 proz. Na_2CO_3 .	623	575	547	510	**650**	624	575	542	510	8
II a	„	625	577	542	505	**646**	622	575	545	508	10
						643	620	575	544	508	18
II b	1 proz. K_2CO_3 .	625	581	545	508	**651,1**	623	575	542	509	8
II b	1 proz. $NH_4(OH)$	624	576	547	508	**658**	622	576	542	509	8
II a	„	622	577	547	507		623	576	544	508	10
						646	622	576	540	507	18

b) Lösungsmittel: Wässerige Säurelösungen.

Präparat	Lösungsmittel	Vor der Belichtung		Nach der Belichtung		Dauer der Belichtung
VII	Essigsäure	594	563 (?)	594	547	**5h 30'**
VII	Oxalsäure	593	547	593	547	**5 30**
VII	Milchsäure	593	547	593	547	**5 30**
VII	Weinsäure	594	547	593	547	**5 30**
III	25 proz. Salzsäure .	594	558	594	558	**2 Mon. lang**

[1]) Ebendaselbst **131**, 246, 1923.

c) Lösungsmittel: Reiner Äthylalkohol, Amylalkohol und Äther.

Präparat	Lösungsmittel	Vor der Belichtung					Nach der Belichtung							Belichtungsdauer
IIa	Äthylalkohol	623	593	577	534	498	—	**644**	623	598	574	533	497	mehrere Stunden
III	„	620	597	573	533	498	**661**	**643**	621	597	574	533	498	1h 40′
							661	**641**	618	597	573	533	499	4 40
							—	**644**	620	—	568	533	501	16
I	„	623	595	578	536	501	—	**646**	623	—	576	533	501	14
II	„	619	—	575	536	500	—	**644**	619	—	575	533	501	4 30
III	Amylalkohol	622	597	574	534	500	**663**	**643**	623	597	576	535	498	1 40
III	Äther	623	599	577	531	496	—	**651**	624	599	572	533	498	22

d) Lösungsmittel: Äthylalkohol mit verschiedenen Zusätzen.

Präparat	Lösungsmittel	Vor der Belichtung					Nach der Belichtung							Belichtungsdauer
III	Alkohol mit Eisessig	621		572	533	500	**663**	**641**	619	—	572	533	500	4h 40′
III	„	625		575	536	502	**668**	**647**	623	—	575	537	500	3 30
III	Alkohol mit NH_4OH	619	597	571	532	500	**660**	**644**	618	—	574	533	500	4 40
IIa	„	nicht abgelesen					—	—	621	593	573	533	499	1 10
							—	**646**	621	593	574	533	500	4 10
IIa	Alkohol mit 1 Proz. K_2CO_3	„					—	—	623	598	573	534	499	1 10
							670	**649**	622	598	573	534	499	4 10
III	Alkohol mit festem KOH	620	597	573	533	498	—	—	618	597	568	534	499	4 40
III	„	620		568	533	498	—	**646**	619	—	568	533	500	4

Es war also *in allen wässerigen alkalischen Lösungen*, wenn sie einige Stunden lang dem Sonnenlicht ausgesetzt wurden, *ein früher nicht vorhandener Streifen im Rot* bei etwa 640 bis 650 $\mu\mu$ aufgetreten. Dasselbe war der Fall in den reinen *äthylalkoholischen*, *amylalkoholischen* und *ätherischen* Lösungen (in einer äthylalkoholischen und in der amylalkoholischen Lösung war auch ein zweiter neuer, noch weiter in Rot gelegener Streifen zu sehen); ferner auch in den organisch-sauren und alkalischen *alkoholischen* Lösungen (öfters zwei neue Streifen in Rot); merkwürdigerweise war in einer der beiden mit fester Kalilauge versetzten alkoholischen Lösungen der Effekt ausgeblieben, im anderen ganz deutlich. Hingegen erfuhr das Spektrum des in *wässerig-organischen Säuren gelösten Hph.* durch die Belichtung an der Sonne *keine Änderung, ebensowenig wie die mit HCl angefertigte Lösung.*

In einzelnen Versuchen war es gut zu beobachten, daß nach einer kurzen Belichtungsdauer der neue Streifen oder einer der beiden neuen Streifen wohl zu sehen war, später aber violettwärts rückte oder voll-

ständig verschwand; zu anderen Gelegenheiten fand ich, daß der neue Streifen nach einer ersten kurzen Belichtungsdauer noch nicht zu sehen war, wohl aber nach einer abermaligen längeren Belichtungsdauer.

Die Lage der übrigen Streifen war nur wenig verändert, es sei denn, daß in manchen Versuchen gewisse, vor der Belichtung vorhandene Streifen infolge der allzu starken oder langen Einwirkung des Sonnenlichtes beinahe ganz abgeblaßt waren. Versuche, wo dies der Fall war, sind, da sie eine unwichtige Komplikation darstellen, in obiger Zusammenstellung nicht aufgenommen. Desgleichen habe ich des Raumersparnisses halber eventuelle Vor- und Nachschatten weggelassen.

Sehr auffallend ist die Beobachtung, die ich an einer Lösung von Hph. (Präparat I) in reinem Alkohol machen konnte, die ursprünglich das typische Spektrum, nach 5 Monate langem Stehen im Finstern aber so wie die mit Sonnenlicht behandelten Lösungen einen schwachen neuen Streifen in Rot, bei 646 $\mu\mu$, aufwies. Weitere 2 Jahre später war dieser Streifen annähernd an derselben Stelle bei 643 $\mu\mu$, aber weit stärker zu sehen.

Ähnliches fand sich auch an einer ätherischen Lösung von Hph. (Präparat ?), die, frisch untersucht, ein typisches Spektrum, nach 6 Monate langem Aufbewahren im Finstern ebenfalls einen neuen Streifen in Rot, bei 638 $\mu\mu$, erkennen ließ.

Da die beiden soeben beschriebenen Lösungen nicht in einem „optisch finstern" Raum aufbewahrt wurden, sondern in dem dunklen Hintergrund eines von direktem Sonnenlicht nie betroffenen Schrankes, der immerhin ab und zu geöffnet wurde, läßt es sich nicht sicher entscheiden, ob das zuweilen und in minimalen Mengen einfallende Licht es war, das während der monatelangen Dauer dieselbe Wirkung zeitigte, wie volles Sonnenlicht in unverhältnismäßig kürzerer Zeit; oder aber ob gesagt werden muß, daß das Auftreten des neuen Streifens das Zeichen eines chemischen Vorganges ist, der auch in Abwesenheit von Licht spontan, wenn auch äußerst langsam verläuft und dessen Reaktionsgeschwindigkeit durch das Sonnenlicht sehr stark erhöht wird.

Zum Schluß wäre noch zu bemerken, daß der neue Streifen in Rot, der auf obige Weise entstanden, in der ätherischen Lösung des Hph. sichtbar ist, wiederzufinden ist, wenn man die ätherische Lösung eindampft und den Rückstand wieder in Äther löst; hingegen fehlt, wenn man den Farbstoff aus dem Äther in 25 proz. HCl und aus diesem wieder in Äther überführt.

F. Paradoxer Belichtungseffekt.

Durch gewisse Unstimmigkeiten bei der spektrophotometrischen Prüfung alkoholischer, ammoniak-alkoholischer und essigsauer-alkoholischer Lösungen von Hph. wurde *Kiko Goto*[1]) veranlaßt, die ge-

[1]) Diese Zeitschr. **135**, 329, 1923.

nannten Lösungen Stunden hindurch dem Lichte einer starken Metallfadenglühlampe auszusetzen, wobei die Lösungen in die zur *König-Martens-Grünbaum*schen Apparatur mit der großen Belichtungsvorrichtung gehörenden Beobachtungsröhren eingeschlossen waren. Nach entsprechend langer Belichtungsdauer wurde das früher vierbandige Spektrum wesentlich verändert gefunden, indem der erste und vierte Streifen verschwundener, der dritte und vierte aber einerseits ansehnlich verstärkt, andererseits deutlich verschoben erschienen.

Diese Ergebnisse sind bei ihrer totalen Verschiedenheit von unseren unter E. angeführten Erfahrungen sehr auffallend. Daß *Goto* keinen neuen Streifen in Rot auftreten sah, ist immerhin begreiflich, wenn man den enormen Unterschied zwischen Sonnen- und Metallfadenglühlicht bedenkt, welch letzteres zudem noch im Spektrophotometer eine Reihe von lichtabsorbierenden Medien passieren muß und der Unterschied sowohl die Intensität wie auch den Gehalt an chemisch wirksamen Strahlen betrifft. Vorderhand gar nicht zu begreifen ist aber das Abblassen des ersten und vierten Streifens, die vom weit stärkeren Sonnenlicht nicht verändert werden, welche Erscheinung fürderhin kurz als „*paradoxer Belichtungseffekt*“ bezeichnet werden soll.

Um den Widerspruch zu erklären, habe ich vor allem die *Goto*schen Versuche unter den von ihm getroffenen Versuchsbedingungen wiederholt, d. h. Hph.-Lösungen in die zum *König-Martens-Grünbaum*schen Spektrophotometer (große Beleuchtungsvorrichtung) gehörenden Beobachtungsröhren eingefüllt, diese in die Rinne des Apparates eingelegt und viele Stunden hindurch belichtet, wie wenn richtige spektrophotometrische Ablesungen ausgeführt werden sollten.

Diese Untersuchungen wurden an verschiedenen Hph.-Präparaten, die in verschiedenen Lösungsmitteln gelöst wurden, mittels des Prismenspektroskops ausgeführt. Die Streifenmitten sind in der Tabelle III zusammengestellt.

Tabelle III.

Präparat	Lösungsmittel	Lichtquelle	Vor der Belichtung					Nach der Belichtung		Belichtungsdauer
II b	35 ccm Alkohol + 10 Tropfen Eisessig	Elektrisches Glühlicht	623	598	575	532	500	571	532	28h
II b	70 ccm Alkohol + 5 ccm Eisessig	Gasglühlicht	623	603	571	533	498	572	535	36 30′
II b	70 ccm Alkohol + 5 ccm Eisessig	„	623	604	572	533	498	572	535	18
III	Eisessigalkohol	„	621		574	532	499	571	534	18
IV	n/10 KOH wässerig	„	624		578	545	509	577	537	64
II a	n/10 NaOH wässerig	„	624		576	543	508	578	539	108
II b	35 ccm Alkohol + 10 Tropfen NH_4OH	Elektrisches Glühlicht	621	599	574	534	498	571	535	193
II b	Reiner Alkohol	„	622	598	570	534	497	579	543	48

Also fand ich *Gotos* Erfahrungen durchaus *bestätigt*: In verschiedenen Lösungsmitteln gelöstes Hph., das ursprünglich ein vierbandiges Spektrum besaß, zeigte nach stundenlanger Belichtung ein zweibandiges Spektrum, nicht unähnlich dem, das von *Günther*[1]) als Wärmespektrum bezeichnet wird, und gekennzeichnet ist durch einen Streifen bei 585 bis 568 und einen zweiten bei 546 bis 528 $\mu\mu$.

Suchen wir nach der Ursache des paradoxen Belichtungseffekts, so könnte in erster Linie an die Mitwirkung des Luftsauerstoffs gedacht werden. Denn in den unter E mit Sonnenlicht ausgeführten Versuchen wurde die Lösung, wie erwähnt, in gewöhnliche Medizinflaschen eingefüllt, wobei stets zwischen Kork und Flüssigkeitsoberfläche mehr oder weniger Luft eingeschlossen blieb, während in den Versuchen, die ich zur Erklärung der *Goto*schen Befunde ausgeführt habe, ebenso wie in den *Goto*schen Originalversuchen, die in die Spektrophotometerröhren eingefüllte Flüssigkeit von der Luft abgeschlossen war. Die abweichenden Ergebnisse der Belichtung konnten also davon herrühren, daß einmal Sonnenlicht bei *Anwesenheit* von Sauerstoff, das andere Mal aber Glühlicht in *Abwesenheit* von Sauerstoff eingewirkt haben.

Nun ergab sich aber, daß ich in manchen genau so wie oben ausgeführten Versuchen, deren einige nachfolgend mitgeteilt sind, keine Spur des paradoxen Belichtungseffekts fand, indem das vierbandige Spektrum auch nach längerer Belichtung unverändert geblieben war. Die mittels Prismenspektrometer ermittelten Streifenmitten verhielten sich wie folgt:

Präparat	Lösungsmittel	Lichtquelle	Vor der Belichtung					Nach der Belichtung				Belichtungsdauer
IIa	Eisessigalkohol	Elektr. Glühlicht	620	598	573	532	498	622	573	534	499	120h
IIa	Reiner Alkohol	„	621	598	572	532	497	623	571	535	497	118
IIa	„	„	619		572	532	496	623	569	533	497	265

Anfangs wollte ich an meiner Annahme von der Mitwirkung des Luftsauerstoffs festhalten und legte mir die letzterwähnten, anders lautenden Versuchsergebnisse wie folgt zurecht: Schließt man alkoholische (oder gar ätherische) Lösungen in die Spektrophotometerröhren ein, so ist der Verschluß zwischen Röhrenrand und frontalen Glasscheiben ein scheinbar tadelloser. Doch wird man auch, wenn die Glasscheibe durch Aufschrauben der Metallkapsel fest auf die Röhre aufgedrückt wird, oft wahrnehmen können, daß nach längerem Stehen Alkohol (bzw. Äther) durch den kapillaren Spalt zwischen Glasscheibe und Röhrenrand durchsickert, außen angelangt verdampft, und an seine Stelle mehr oder weniger Luft in Form von Blasen in das Röhreninnere

[1]) l. c., S. 627.

zur Flüssigkeit tritt. Ich habe daher angenommen, daß der paradoxe Belichtungseffekt ausgeblieben war, weil in obigen Versuchen Luftsauerstoff hinzugetreten war.

Um diese Möglichkeit zu entscheiden, habe ich in weiteren Versuchen die Spektrophotometerröhre mit eisessig- bzw. ammoniakalkoholischer Hph.-Lösung bloß zur *Hälfte* angefüllt, die Flüssigkeit dem Sonnen- bzw. dem Glühlicht ausgesetzt, und von Zeit zu Zeit, um den eventuell verbrauchten Sauerstoff zu ersetzen, die Röhre geöffnet und dann wieder verschlossen. Die am Prismenspektrometer bestimmten Streifenmitten sind nachfolgend zusammengestellt.

Präparat	Lösungsmittel	Lichtquelle	Vor der Belichtung					Nach der Belichtung			Belichtungsdauer
III	Eisessigalkohol	Sonnenlicht	621		574	533	502		553*		
III	„	Auer-Glühlicht	620		573	533	500	572		535	12h
IIa	„	Elektrisches, nachher Auer-Glühlicht	620	597	573	532	498		555*		
III	Alkohol + NH_4OH	Auer-Glühlicht	620		572	535	500		551*		

* Da die Lösungen recht konzentriert waren, sind die verstärkten Streifen II und III konfluiert

Angesichts dieser Versuchsergebnisse ist die Annahme, daß der paradoxe Belichtungseffekt nur in *Abwesenheit* des Luftsauerstoffs zustande kommen kann, hinfällig geworden; demzufolge ich seine Ursache anderswo suchen mußte, und zwar in den Spektrophotometerröhren, in die die Hph.-Lösungen eingeschlossen waren. Weder die gläserne Röhrenwand, noch aber die frontalen Glasscheiben konnten verdächtigt werden, *wohl aber der zwischen Glasscheibe und Metallkapsel befindliche Gummiring*. Wenn nämlich nach unseren Ausführungen auf S. 490 zwischen Röhrenwand und Glasscheibe Flüssigkeit durchsickert, so kann diese auch mit dem Gummiring in Berührung kommen, und enthält der Gummi alkohollösliche, chemisch differente Stoffe, so ist es durchaus möglich, daß diese durch die erwähnte kapillare Spalte wieder, wenn auch in minimalen Mengen, nach innen diffundieren und, dort auf das Hph. chemisch einwirkend, dessen Spektrum verändern.

Um Klarheit zu schaffen, mußte vor allem ermittelt werden, ob sich aus dem Gummi im obigen Sinne aktive Stoffe extrahieren lassen. Sodann mußten Versuche einerseits unter gänzlichem Ausschluß von Gummisubstanz ausgeführt werden, andererseits in Anwesenheit von Gummi bei Ausschluß von Licht, da es ja sogar denkbar war, daß das Licht überhaupt nicht, bloß das Gummi wirksam sei; endlich mußte entschieden werden, ob, wenn der Gummiring der Schuldtragende ist, seine Aktivität bloß Verunreinigungen zuzuschreiben ist (da ja in den Spektrophotometerröhren seit vielen Jahren verschiedene,

auch stark sauer bzw. alkalische Farbstofflösungen geprüft wurden), oder aber auch anderes bzw. reines Gummi sich aktiv verhält? Die zuerst gestellte Frage ließ sich positiv beantworten. Ich habe Spektrophotometergummi 36 Stunden lang mit Alkohol extrahiert, den Extrakt verdampft, den Rückstand in wenig Alkohol gelöst und diese Lösung mit einer frisch bereiteten Lösung von Hph., die das typische vierbandige Spektrum zeigte, versetzt. Innerhalb der ersten halben Stunde konnte ich nun den paradoxen Belichtungseffekt sich entwickeln sehen, und am nächsten Morgen war nur mehr der zweite und dritte Streifen bei 575 bzw. 536 $\mu\mu$ zu sehen.

Sodann habe ich Hph.-Lösung sowohl in Spektrophotometer-Röhren als auch in zu diesen Versuchen ebenso verwendbaren Polarimeterröhren belichtet, aus denen beiden der Gummiring herausgenommen war, wobei ich aber die Glasscheiben durch Bindfaden möglichst stark an die Röhrenränder preßte. Von den nachfolgend zusammengestellten Versuchen wurde der erstangeführte in der Spektrophotometerröhre (fürderhin Sp.-R. geschrieben), der zweite und dritte in der Polarimeterröhre (fürderhin P.-R.) ausgeführt. Die Streifenmitten wurden mittels des Prismenspektrometers bestimmt.

Präparat	Lösungsmittel	Lichtquelle	Vor der Belichtung				Nach der Belichtung				Belichtungsdauer
II b	Eisessigalkohol	Gasglühlicht	622	573	533	501	621	576	533	500	$2^1/_2$ Tage
III	„	Sonnenlicht	622	575	534	501	620	576	˙37	502	4h 15′
II b	„	„	nicht abgelesen				621	569	534	501	2 30

Also ist evident, daß der paradoxe Belichtungseffekt in *Abwesenheit des Gummiringes nicht vor sich geht.*

Dann habe ich Hph.-Lösungen in P.-R. eingefüllt, aus denen der Gummiring zwischen frontaler Glasscheibe und Metallkapsel nicht entfernt war, der Lichtwirkung ausgesetzt und die Streifenmitte mit dem Prismenspektrometer festgestellt.

Präparat	Lösungsmittel	Lichtquelle	Vor der Belichtung				Nach der Belichtung			Belichtungsdauer
II a	Eisessigalkohol	Sonne	621	572	533	498	579	562	534	6h 30′
II a	„	„	623	570	535	500	581	566	535	5

Also war auch der P.-R.-Gummiring aktiv, der erste und vierte Streifen waren verschwunden, der zweite und dritte Streifen erstarkt. (Dabei war der zweite Streifen deutlich verdoppelt, wie das auch an *Gotos* Präparat I der Fall war.) Eine Verunreinigung so mannigfaltiger Art, wie am Sp.-R.-Gummi, war hier ausgeschlossen, da in diesen

Röhren nur mit Bleizucker geklärte Zuckerharne geprüft wurden, zudem auch diese Flüssigkeit stets nur für die Dauer der Ablesung am Polarimeter, also einige Minuten lang, in den Röhren gelassen wurde.

Endlich habe ich Hph.-Lösungen im Finstern stehengelassen, und zwar einerseits Monate hindurch, ohne daß sie mit Gummisubstanz in Berührung kommen konnten, andererseits bloß tagelang, jedoch nachdem in die Lösung Gummistückchen verschiedener Provenienz hineingeworfen wurden. Die Streifenmitten wurden mit Ausnahme dreier Versuche, bei denen in Tabelle IV Dezimalen angegeben sind, mittels des Prismenspektrometers bestimmt.

Tabelle IV.

Präparat	Lösungsmittel	Gummi	Sofort untersucht				Untersucht nach					
II b	Eisessigalkohol	keines	622	573	533	501	10 Monaten	622,8	573,0	530,7	496,5	
II b	„	keines	nicht abgelesen				„	622,0	572,7	531,0	496,5	
V	n/10 KOH wasserig	gebrauchtes Sp-Gummi	620,0	570,8	540,4	504,0	1 Tag	571,6		534,7		
V	„	„	nicht abgelesen				2 Tagen	569,7		536,1	467,1(!)	
III	Eisessigalkohol	„	621	573	534	500	1½ Tagen	573		535		(sehr schwach)
III	„	ungebraucht. Sp-Gummi	621	574	532	499	1 Tag	573		536	499	
III	„	ungebraucht. P-Gummi	622	574	532	499	ca. 1 Tag	577		537		
V	„	ungebraucht. Gummistoff	622,9	567,3	531,4	499,7	3 Tagen	577,2	560,1	531,0		

Aus diesen Versuchen geht also hervor, daß *Lösungen von Hph., sofern keine Berührung mit Gummi stattfindet, monatelang im Finstern aufbewahrt, keine Spur des paradoxen Belichtungseffekts aufweisen*, hingegen nach kurzer Berührung auch mit ungebrauchtem Gummi verschiedener Provenienz die charakteristischen Veränderungen erleiden.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß *das Verschwinden des ersten und vierten Streifens, sowie das Erstarken des zweiten und dritten Streifens keine Folge der Belichtung ist, sondern durch die Berührung mit Gummi hervorgerufen wird.*

Bei der ganz bedeutenden und in verschiedenen Lösungen stets in derselben Form konstant wiederkehrenden Änderung, die das Hph.-Spektrum durch die Berührung mit Gummi erleidet, war es von Interesse, Näheres über den Prozeß, um den es sich hierbei handelt, zu erfahren. Diesbezüglich konnte ermittelt werden, daß der paradoxe Belichtungseffekt auch in Hph.-Lösungen zustande kommt, in denen vorangehend unter Einwirkung des Sonnenlichtes der neue Streifen in Rot aufgetreten war, aber gleichzeitig mit der Entwicklung des paradoxen Belichtungseffekts wieder verschwand.

Hph.-Präparat III in amoniakalischem Alkohol gelöst.
Frisch untersucht: 619, 597, 571, 532, 500.
Nach Sonnenbelichtung: 645, 620, 569, 533, 501.
Nach 71stündiger Belichtung mit Glühlicht in der Spektrophotometerröhre mit Gummiring: 613 (sehr schwach), 563, 523.

Im Gegensatz hierzu tritt in einer Hph.-Lösung, in der es vorangehend infolge der Berührung mit Gummi zum paradoxen Belichtungseffekt gekommen war, auch nach monatelangem Einwirken des Sonnenlichtes *kein neuer Streifen* in Rot auf.

Auch ist zu erwähnen, daß, während in einer von Gummi noch nicht berührten Hph.-Lösung unter Einwirkung des Sonnenlichtes, das den neuen Streifen in Rot entstehen ließ, dieser und die übrigen in einigen Stunden oder Tagen wieder sehr stark, zum Teil vollständig abblassen, eine Hph.-Lösung, in der es infolge der Gummiwirkung vorangehend zum paradoxen Belichtungseffekt gekommen war, auch nach wochenlanger Belichtung an der Sonne kein Abblassen der ihr verbliebenen zwei Streifen erkennen läßt. Die Veränderung, die das Hph. unter der Einwirkung des Gummis erleidet, ist, wenn auch vielleicht keine tiefgreifende, jedoch immerhin außer an seinem spektralen Verhalten auch an seinen Löslichkeitsverhältnissen zu erkennen. Während nämlich das Hph. z. B. aus seiner alkalischen Lösung, die *nicht* mit Gummi in Berührung war, nach Ansäuern mit Essigsäure und Versetzen mit essigsaurem Natrium in Äther überführt und aus diesem restlos mit 25proz. HCl ausgeschüttelt werden kann, wobei sowohl die ätherische wie auch die salzsaure Lösung das jeweils typische Spektrum aufweisen, das aus Tabelle I zu ersehen ist, verhält sich eine mit Gummi vorbehandelte Lösung wesentlich anders. Es geht wohl alles Hph. in Äther über, doch aus diesem bloß ein Teil in HCl. Der in HCl überführbare Anteil „a“ ist unverändertes Hph., daran zu erkennen, daß es, in dieser salzsauren Lösung wie auch wieder in Äther zurückgeführt, das jeweils typische Spektrum aufweist, während *der Anteil „b“, der mit HCl nicht ausgeschüttelt werden kann und im Äther verblieben war, verändertes Hph. ist, das in dieser ätherischen Lösung ein ganz atypisches zweibandiges Spektrum, Streifen bei etwa 562 und 525 $\mu\mu$ aufweist.* Wird der diesen Anteil enthaltende Äther verdampft und der Rückstand in KOH gelöst, erhält man das zweibandige Spektrum und nicht das ursprüngliche vielbandige.

Präparat V, in n/10 KOH gelöst.
Frisch untersucht: 620,0, 570,8, 540,4, 504,0.
24 Stunden lang mit Gummi gestanden: 571,6, 534,7.
a) Über Äther in HCl überführbarer Anteil: 595,8, 576,0, 552,9.
b) In HCl nicht überführbarer, in Äther verbliebener Anteil: 561,6, 524,7. Ätherrückstand in n/10 KOH gelöst: 571,6, 534,7.

Präparat V, in n/10 KOH gelöst.

Frisch untersucht: wie oben.

48 Stunden mit Gummi gestanden: 569,7, 536,1, 467,1 (sehr schwach).

a) Über Äther in HCl überführbarer Anteil: 595,5, 575,2, 550,8. In Äther zurückgeführt: 619,7, 572,2, 539,9, 504,5.

b) In HCl *nicht* überführbarer, in Äther verbliebener Anteil: 562,0, 524,4, 496,5 (sehr schwach).

Ätherrückstand in n/10 KOH gelöst: 571,6, 533,1, 497,3 (sehr schwach).

Läßt man die alkalische Hph.-Lösung, die mit Gummi in Berührung war, viele Monate oder gar 1 bis 2 Jahre lang stehen, so schreitet der Prozeß weiter vor, indem der aus Äther in HCl überführbare Anteil immer weniger wird und zuletzt überhaupt nicht mehr vorhanden ist. Zum Zeichen dessen, daß nunmehr alles Hph. umgewandelt ist.

Diese Umwandlungen finden nicht nur, wie oben beschrieben, in wässerig-alkalischen, sondern auch in den essigsauer-alkoholischen und ammoniakalisch-alkoholischen Hph.-Lösungen statt; allerdings langsamer als in der erstgenannten.

Auch kommt es vor, daß die Umwandlung des Hph. zunächst eine reversible ist, indem der in Äther überführte Farbstoff wohl das oben beschriebene zweibandige Spektrum zeigt, jedoch aus Äther quantitativ (wie nicht umgewandeltes Hph.) mit HCl ausgeschüttelt werden kann und, aus diesem wieder in Äther zurückgeführt, nicht das zweibandige, sondern ein typisches vielbandiges Spektrum aufweist, desgleichen auch der Rückstand der ätherischen Lösung, wenn man ihn in KOH löst.

Präparat V, in Alkohol gelöst und 20 ccm der Lösung mit 20 Tropfen Eisessig versetzt.

Frisch untersucht: 622,9, 567,3, 531,4, 499,7.

24 Stunden lang in Berührung mit Gummi: 575,4, 538,9.

Über Äther in 25proz. HCl überführt: 595,4, 552,2, 509,8, 485,4.

In Äther zurück: 624,6, 598,1, 568,9, 530,7, 496,0.

Ätherrückstand in n/10 KOH gelöst: 620,3, 571,4, 539,5, 502,5.

Die Ergebnisse meiner Beobachtungen lauten kurz zusammengefaßt wie folgt:

1. *Durch die Asymmetrie so mancher Absorptionsstreifen wird bewirkt, daß die aus den Rändern berechnete Mitte dieser Streifen mit wechselnder Konzentration der Lösung ihre Lage ändert.*

2. *Die Mitte eines Streifens, der in konzentrierten Lösungen durch Zusammenfließen zweier benachbarter Streifen, eines schwächeren und eines breiteren, entstanden ist, ist, aus der Lage seiner Ränder berechnet, gegen den breiteren Streifen zu verschoben, und zwar um so mehr verschoben, je konzentrierter die Lösung ist.*

3. *Die bekannte Lageveränderung der Absorptionsstreifen salzsaurer Lösungen von Hämatoporphyrin in Abhängigkeit von der Konzentration der Salzsäure findet nicht statt, wenn daneben Alkohol in höherer Konzentration enthalten ist.*

4. *Auch in alkalischen Lösungen von Hämatoporphyrin ändern die Absorptionsstreifen ihre Lage mit wechselnder Konzentration des Lösungsmittels.*

5. *Wird Hämatoporphyrin in wässerigen Alkalien, in Äthyl-, Amylalkohol, in Äther oder in Alkohol, dem Säure oder Alkali zugesetzt war, gelöst, und setzt man diese Lösungen dem Sonnenlicht aus, so tritt in ihrem Spektrum ein neuer Streifen in Rot auf (zuweilen sind es gar zwei neue Streifen). Werden wässerige Säuren als Lösungsmittel verwendet und diese Lösungen dem Sonnenlicht ausgesetzt, so tritt kein neuer Streifen in Rot auf.*

6. *Durch Berührung mit Gummi wird das vielbandige Spektrum des Hämatoporphyrins, ob man es in reinem Alkohol, in Eisessigalkohol oder in wässeriger Lauge gelöst hat, in ein zweibandiges verwandelt, und zwar bei oder ohne Luftausschluß, im Finstern sowohl wie am Lichte. Der im Gummi enthaltene Stoff, der hierbei wirksam ist, läßt sich aus dem Gummi durch Alkohol extrahieren.*

7. *Hämatoporphyrinlösungen, in denen unter Einwirkung des Sonnenlichtes ein neuer Streifen in Rot aufgetreten ist, verändern sich, mit Gummi in Berührung gebracht, ebenfalls, so daß ihr Spektrum zu einem zweibandigen wird. Umgekehrt gelingt es aber nicht, in einer Hämatoporphyrinlösung, deren Spektrum durch Berührung mit Gummi zu einem zweibandigen geworden ist, durch Belichtung mit Sonnenlicht den neuen Streifen in Rot hervorzubringen.*

Diese Arbeit wurde auf Anregung und unter Leitung von Herrn Prof. *Paul Hári* ausgeführt.

Bemerkungen zu dem Aufsatz von Gustav Alsterberg „Methoden zur Bestimmung von in Wasser gelöstem elementaren Sauerstoff bei Gegenwart von salpetriger Säure“[1].

Von

H. Noll.

(Aus dem hygienischen Staatsinstitut in Hamburg.)

(Eingegangen am 2. Oktober 1925.)

In dem obigen Aufsatz hat der Verfasser bei Besprechung der Sauerstoffbestimmung im Wasser nach *Winkler* auch einige von mir vorgeschlagene Modifikationen kritisch bewertet, wobei ihm einige Unstimmigkeiten unterlaufen sind, die ich nicht unbesprochen lassen möchte. Auf S. 37 heißt es:

„*Die Harnstoffmethoden von Lehmann und Noll.* Um die N_2O_3 zu eliminieren, hat man verschiedene Methoden ausgearbeitet. Eine derselben, von *Lehmann* und *Noll* ausgearbeitet (*Ohlmüller-Spitta* 1921, S. 47), besteht darin, daß der Probe Harnstoff zugesetzt wird. Dieser enthält primäre Aminogruppen, die mit N_2O_3 reagieren: $C(NH_2)_2 + N_2O_3 = CO_2 + 2\,H_2O + 2\,N_2$.

Die Reaktion verläuft indessen sehr langsam (*Alsterberg*, 1924), was ich in einer späteren Abhandlung noch deutlicher werde zeigen können. Ich muß deshalb die Methode für so gut wie unbrauchbar erklären.“

Hierzu möchte ich bemerken, daß die Methode von *Lehmann* in der von mir modifizierten Form nicht als unbrauchbar bezeichnet werden kann. Die Reaktionen verlaufen allerdings langsam, aber nach 4 Stunden langem Stehen der Proben sind größere Nitritmengen — es wurden Wässer mit 45,2 mg N_2O_3 im Liter verwendet — zerstört, so daß dann die Bestimmung des Sauerstoffs nach *Winkler* zu vollständig befriedigenden Ergebnissen[2] führt. Die Methode kann also, wenn es sich nicht darum handelt, den Sauerstoffgehalt sofort festzustellen, durchaus empfohlen werden.

Auf S. 39 kritisiert *Alsterberg* die Korrektionsmethoden von *Winkler* und *Noll*, wobei er auf den Leitfaden *Ohlmüller-Spitta* 1921, S. 46 hinweist und sagt, daß bei diesen Korrekturen der zur Oxydation der salpetrigen Säure erforderliche Sauerstoff fälschlich bei der Korrektur dem Sauerstoffbefunde hinzuaddiert würde. Hierzu kann folgendes gesagt werden: Die ursprünglich von *Winkler* vorgeschlagene Korrektur bei verschmutzten Wässern sollte wohl den Zweck haben, die beim Vorhandensein von organischen Stoffen im Wasser entstehenden Fehler zu beseitigen. Ich habe

[1]) Diese Zeitschr. **159**, 36, 1925.

[2]) Zeitschr. f. angew. Chem. 1917, S. 105f.

früher darauf hingewiesen[1]), daß die von *Winkler* vorgeschlagene Korrektur mit Manganichlorid zu falschen Ergebnissen führen müsse, da bei der Bestimmung des Sauerstoffs selbst, also beim Zusatz von Manganchlorürlösung und jodkaliumhaltiger Natronlauge zu den Wässern gar kein Manganichlorid in Aktion tritt, da dieses sich mit vorhandenem Jodkalium umsetzt, so daß also nur eine Einwirkung von Jod auf die organischen Substanzen stattfindet. Ich habe damals auch gezeigt, daß selbst bei ziemlich verschmutzten Wässern fast gar kein Jod verloren geht, so daß sich eine Korrektur auf organische Stoffe im allgemeinen erübrigt. Daß *Winkler* den Standpunkt vertreten hat, daß er nur den störenden Einfluß der organischen Stoffe und nicht der Nitrite bei der Sauerstoffbestimmung eliminieren wollte, geht daraus hervor, daß bei der Bestimmung des Sauerstoffs nach seiner Methode eine Zerstörung der Nitrite gar nicht erreicht wird, weil dabei kein Chlor, sondern Jod einwirkt, so daß infolge der beim Titrieren sich stets neu bildenden salpetrigen Säure ganz falsche Werte erhalten werden, da die Titration erst beendet ist, wenn die ganze salpetrige Säure in Salpetersäure übergeführt worden ist. Beide Korrekturen waren also gar nicht für Wässer mit einem Nitritgehalt berechnet.

In dem Leitfaden (*Ohlmüller* und *Spitta*) wird bei der Beschreibung der beiden Korrektionsmethoden gesagt: „Bei beiden Verfahren wird die salpetrige Säure durch das Manganichlorid zu Salpetersäure oxydiert". Diese Bemerkung ist wohl zutreffend für die Korrektur nach *Winkler*, aber nicht nach *Noll*, da bei letzterer dadurch, daß erst Jodkalium und dann Manganichlorid hinzugefügt wird, nicht das Manganichlorid, sondern Jod zur Wirkung kommt, wodurch eine Oxydation der Nitrite zu Nitrat nicht stattfinden kann. In dieser Erkenntnis hat *Winkler* auch seine Korrektionsmethode dahin abgeändert, daß er empfiehlt, an Stelle von Manganichloridlösung Jodlösung zu verwenden und die dabei erhaltene Differenz dem Sauerstoffbefunde zu addieren. Diese Vorschrift ist in die chemische Technologie von *Lunge* aufgenommen worden, die von *Winkler* mit bearbeitet worden ist. An derselben Stelle wird auch darauf hingewiesen, daß man den störenden Einfluß der salpetrigen Säure dadurch beseitigen kann, wenn man bei der Ausführung der Sauerstoffbestimmung *Natronlauge ohne Kaliumjodid* verwendet. Nach dem Zusetzen der Natronlauge wird die Salzsäure in der doppelten Menge wie sonst und nach etwa 3 Minuten langer Einwirkung ein Kriställchen Kaliumjodid hinzugefügt. Sodann wird die Korrektur mit Manganichloridlösung vorgenommen. Hierzu habe ich seinerzeit in einem Aufsatz „Beitrag zur Bestimmung des im Wasser gelösten Sauerstoffs bei Gegenwart von Nitriten und organischer Substanz" bemerkt, daß die Korrektur in diesem Falle zutreffend ist, da bei der Ausführung der Sauerstoffbestimmung ebenfalls Manganichlorid und nicht Jod auf die salpetrige Säure und auf etwa vorhandene organische Stoffe einwirkt. Ich habe aber gleichzeitig darauf hingewiesen, daß das Verfahren nicht für Wässer angebracht ist, die reichliche Mengen an Nitriten, aber wenig Sauerstoff enthalten, da in diesem Falle das gebildete Manganichlorid nicht ausreicht, um die Nitrite zu zerstören und der Rest an Nitriten eine genaue Titration unmöglich macht. Waltet der Sauerstoff aber vor, so muß die Bestimmung zu richtigen Ergebnissen führen, wenn die bei der Korrektur festgestellte Differenz dem Sauerstoffbefunde zuaddiert wird. Die Differenz von dem Sauerstoffbefunde abzuziehen, ist unrichtig.

[1]) Zeitschr. f. angew. Chem. 18, 1767, 1905.

Ferner erwähnt *Alsterberg* die Neutralisationsmethoden von *Clarke* und von *Hale* und *Melia*. Er bezeichnet diese als die bisher besten Methoden zur Paralysierung des störenden Einflusses von N_2O_3 bei der Sauerstoffbestimmung nach *Winkler*. Hierzu möchte ich bemerken, daß die Methode von *Clarke* früher einer Nachprüfung von mir unterzogen worden ist, wobei ich zu so ungünstigen Ergebnissen[1]) kam, daß ich die Methode für unbrauchbar erklären mußte.

Meine obigen Ausführungen möchte ich also folgendermaßen zusammenfassen.

1. Die Korrektionsmethode mit Manganichlorid nach *Winkler* ist brauchbar für Wässer mit und ohne Nitrite, wenn bei der Sauerstoffbestimmung zunächst Manganochlorid und Natronlauge, dann Salzsäure und nach kurzer Einwirkung dieser Jodkalium hinzugefügt wird. Die bei der dann vorgenommenen Korrektur erhaltene Differenz muß dem Sauerstoffbefunde addiert werden.

2. Die von *Noll* modifizierte *Winkler*sche Methode, nach der zunächst Jodkalium und dann Manganichlorid hinzugefügt wird, kommt nur für Wässer in Frage, die nitritfrei sind, da nur Jod in Aktion tritt und dieses die Nitrite nicht zerstört. Das gleiche gilt auch für die vorgeschlagene Methode von *Winkler*, an Stelle von Manganichloridlösung Jodlösung zu verwenden und die dabei erhaltene Differenz dem Sauerstoffbefunde zu addieren.

3. Enthalten die Wässer Nitrite, so können diese durch Harnstoff in der von *Lehmann* und *Noll* empfohlenen Weise beseitigt und dann die Sauerstoffbestimmung wie üblich ausgeführt werden, wobei noch hinzugefügt werden kann, daß bei nitrithaltigen Wässern auch das von *Winkler*[2]) vorgeschlagene Verfahren, den Niederschlag von Manganoxydul durch Kohlensäure in Manganocarbonat überzuführen, so daß der Niederschlag abfiltriert werden kann, brauchbar ist. Noch einfacher ist die von *Bruns* und *Noll* vorgeschlagene Modifikation dieses Verfahrens, an Stelle des Einleitens von Kohlensäure die Umsetzung des Manganoxyduls durch Kalium- bzw. Natriumbicarbonat zu bewirken.

Zum Schluß möchte ich noch bemerken, daß die von *G. Alsterberg* empfohlene Azidmethode sicher einer Nachprüfung unterzogen werden wird, wozu mir zurzeit leider die Zeit fehlt. Sollten die von *Alsterberg* geschilderten Vorzüge der Methode sich dabei bestätigen, so würde die Methode bei der Bestimmung des Sauerstoffs in nitrithaltigen Wässern nach *Winkler* sicher sehr wertvoll sein. Bis dahin hielt ich es für angezeigt, zu der Kritik *Alsterbergs* über die älteren Verfahren einige erläuternde Bemerkungen zu bringen.

---

[1]) Zeitschr. f. angew. Chem. 1917, S. 105f.

[2]) Zeitschr. f. analyt. Chem. 53, 665, 1914.

Erwiderung auf die Entgegnung des Herrn Dr. Mislowitzer bezüglich eines „neuen Potentiometers“ und einer „neuen Doppelelektrode“ [1]).

Von

Max Trénel.

(Aus der Geologischen Landesanstalt Berlin.)

(Eingegangen am 5. Oktober 1925.)

Da Herr Dr. *Mislowitzer* in seiner Entgegnung — einer geschickt erscheinenden *formalen Dialektik* — sich nicht vor einseitigen Darstellungen, unzutreffende Zitieren, selbst nicht vor Verschiebung der Streitfrage scheut, muß ich auf eine weitere Diskussion mit Herr Dr. *Mislowitzer* verzichten. Ich stelle lediglich fest, daß das von mir in Gemeinschaft mit *Siemens* und *Halske* angegebene „Acidimeter“ mit den amerikanischen Potentiometern *nicht mehr gemeinsam hat als das alte, wohlbekannte Kompensationsprinzip von Poggendorf-Du Bois-Reymond.*

---

[1]) Diese Zeitschr. **161**, 508, 1925.

Antwort auf vorstehende Entgegnung.

Von

Ernst Mislowitzer.

(Aus der chemischen Abteilung des pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 2. November 1925.)

Persönliche Verunglimpfungen ungewöhnlichster Art wählt Herr Dr. *Trénel* als Antwort auf meine mit allen Unterlagen versehene, sachlich gehaltene Ablehnung seiner Prioritätsansprüche. Das wird jedem Leser die Bildung eines eigenen Urteils über die von Herrn Dr. *Trénel* vertretene Sache erleichtern. Meine Bemerkungen, zu denen ich durch die Angriffe des Herrn Dr. *Trénel* veranlaßt wurde, halte ich hiermit ausdrücklich Punkt für Punkt und ohne jede Einschränkung aufrecht.

Autorenverzeichnis.

